АКАДЕМИЯ НАУК СОЮЗА ССР

МИКРОБИОЛОГИЯ

ЖУРНАЛ ОБЩЕЙ, СЕЛЬСКОХОЗЯЙСТВЕННОЙ
И ПРОМЫШЛЕННОЙ МИКРОБИОЛОГИИ

ТОМ XXIII. ВЫП. 5

СЕНТЯБРЬ—ОКТЯБРЬ

ИЗДАТЕЛЬСТВО АКАДЕМИИ НАУК СССР
МОСКВА

1954

COMMONWEALTH MYCOLOGICAL INSTITUTE
31 JAN 1955

МИКРОБИОЛОГИЯ

Главный редактор чл.-корр. АН СССР А. А. Имшенецкий

Секретарь Я. И. Раутенштейн

РЕДАКЦИОННАЯ КОЛЛЕГИЯ:

Н. Д. Иерусалимский, Н. А. Красильников,
Е. Н. Мишустин, К. И. Рудаков, М. В. Федоров,
В. Н. Шапошников

ПО ВСЕМ ВОПРОСАМ ПОДПИСКИ НА ЖУРНАЛ «МИКРОБИОЛОГИЯ» ОБРАЩАТЬСЯ ПО АДРЕСУ: МОСКВА, УЛ. КУЙБЫШЕВА, 8. КОНТОРА «АКАДЕМКНИГА»

Рукописи направлять по адресу:

Москва Б-64, Подсосенский пер., 21, Издательство Академии наук СССР,

редакция журнала «Микробиология»

ВЛИЯНИЕ УГЛЕКИСЛОТЫ НА ДЫХАНИЕ ПЛЕСНЕВЫХ ГРИБОВ

С. А. Баринова

На основании ранее проведенных работ [1, 2] мы пришли к выводам, что углекислота, находящаяся в воздухе, стимулирует рост плесневых грибов и что это стимулирующее действие нельзя отнести за счет участия ее в синтезе четырехуглеродных двуосновных и шестиуглеродных трехосновных кислот.

Для выяснения значения углекислоты в жизнедеятельности плесневых грибов мы начали изучать ее влияние на отдельные звенья, составляющие сложнейший процесс роста гриба.

Вначале изучалось влияние углекислоты на процесс дыхания, который, как известно, дает наиболее правильное общее представление о взаимодействии между живой клеткой и окружающей средой [4].

Умбрейт, Буррис и Штауффер [5] указывают, что некоторые ткани дышат в присутствии и отсутствие углекислоты с одинаковой скоростью и в таком же объеме и реакции у них совершаются по одному и тому же пути превращений. В случае других тканей углекислота может тормозить, стимулировать и даже изменять направление обмена. Диксон [7] сообщает, что потребление кислорода мозговой тканью и печенью может значительно увеличиваться в присутствии углекислоты; в некоторых случаях найдено увеличение на 100%. Интенсивность дыхания водорослей, наоборот, меньше в присутствии углекислоты, чем в ее отсутствие [5]. В литературе имеются данные относительно влияния углекислоты на рост плесневых грибов, на образование ими органических кислот и на восстановление метиленовой сини. Что же касается действия углекислоты на дыхание грибов, то об этом каких-либо указаний нам найти не удалось.

В настоящей работе мы пытались установить влияние углекислоты на дыхание растущих и нерастущих клеток плесневых грибов.

Методика

Опыты проводились с плесневыми грибами: Aspergillus niger, Asp. flavus, Penicillium chrysogenum и Rhizopus nigricans.

Все применяемые среды и посуда, за исключением сосудиков Варбурга, стерилизовались обычным путем. Для изучения дыхания растущих клеток (конидий) указанных грибов снимаемые с сусло-агара конидии помещались сначала в дестиллированную воду, затем профильтровывались стерильно для удаления конидиеносцев через планктонную сетку. После подсчета в счетной камере конидии вносились в питательную среду из такого расчета, чтобы в 1 мл среды находилось около 20 000 000 конидий. Среда содержала: $(NH_4)_2SO_4$ 0,3%, KH_2PO_4 0,066%, $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ 0,033%, $FeCl_3$ 0,003%, $ZnSO_4 \cdot 7H_2O$ 0,004%, $MnSO_4 \cdot 7H_2O$ 0,003% и глюкозы 1%. В начале опыта pH среды — 4,2.

При изучении дыхания нерастущих клеток грибов, так называемого эндогенного дыхания, грибы предварительно выращивались на питательной среде вышеуказанного состава. Посев производился из расчета 500 000 конидий на 1 мл среды. Затем колбы помещались на качалку при

30—32° на 20—24 часа. В этих условиях грибы вырастали в виде паучков или мелких шариков, которые легко набирались в пипетку. По истечении указанного времени мицелий отфильтровывался на стеклянном фильтре и промывался до конца реакции на глюкозу, а затем помещался в дестиллированную воду.

Дыхание определялось в аппарате Варбурга по первому и второму методу Диккенса и Шимера (см. Умбрейт и др. [5]) и Диксон (Dixon [7]).

В главное пространство сосудика вносили 1 мл суспензии конидий или мицелия. Для прекращения дыхания в главное пространство из одной вращающейся боковой реторты вливалась серная кислота. Поглощение кислорода в отсутствие углекислоты измерялось по первому методу Диккенса и Шимера. По этому методу углекислота, выделяемая при дыхании гриба, поглощалась едким калием, помещенным в циркулярный резервуар сосудика. В конце некоторых опытов для установления дыхательного коэффициента определялось также количество выделяемой при дыхании углекислоты. Для этой цели в циркулярный резервуар вливалась серная кислота из второй боковой вращающейся реторты. Отсчеты манометра, показывающие поглощение кислорода, делались в зависимости от скорости дыхания через разные промежутки времени.

Измерение скорости дыхания в присутствии углекислоты проводилось по второму методу Диккенса и Шимера. По этому способу углекислота, выделяемая при дыхании, поглощалась только в конце опыта путем связывания ее щелочью, образующейся в результате реакции между марганцовокислым калием, находящимся в циркулярном резервуаре сосудика, и иодистым калием, вливаемым в марганцовокислый калий из боковой реторты. Количество поглощенного кислорода вычислялось по Диксону [7]. В опытах с эндогенным дыханием определялась углекислота, выделяемая грибами до закрытия кранов манометров, и затем вычиталась из дальнейших определений. Опыты проводились с двумя параллельными сосудиками. Поглощение кислорода в опытах с конидиями перечислялось на 20 000 000 конидий.

Влияние углекислоты на дыхание конидий Aspergillus niger, Aspergillus flavus, Penicillium chrysogenum и Rhizopus nigricans

В предыдущей работе показано, что углекислота воздуха ускоряет первые стадии роста плесневых грибов, а именно набухание и прорастание конидий. На дальнейший рост уже проросших конидий углекислота воздуха не оказывает влияния, вероятно вследствие того, что она ими выделяется в относительно большом количестве [1]. Основываясь на этом, мы для установления влияния углекислоты на дыхание растущих клеток взяли конидии.

Конидии Asp. niger, Asp. flavus, Pen. chrysogenum и Rh. nigricans, помещенные в дестиллированную воду или в питательный раствор, не содержащий источника углерода, не потребляют кислорода.

Что же касается конидий тех же грибов, находящихся в полной питательной среде, то они начинают поглощать кислород в количествах, определяемых в аппарате Варбурга с манометрической жидкостью Броди, только спустя несколько часов после внесения их в питательный раствор. Вследствие этого в приведенных ниже опытах промежуток времени между приготовлением суспензии Asp. niger, Asp. flavus и Rh. nigricans до закрытия кранов манометров равнялся двум часам, а с Pen. chrysogenum трем часам.

Так как для определения поглощения кислорода в присутствии углекислоты для каждого отсчета необходимо иметь по крайней мере три манометра — один термобарометр и два опытных, мы могли в течение опыта сделать только два — четыре отсчета.

Таблица 1

Влияние углекислоты на потребление кислорода конидиями Asp. niger, Asp. flavus, Pen. chrysogenum и Rh. nigricans

Гриб	Продолжительность опыта в час.	Потребление кислорода		Стимулирование углекислотой потребления кислорода на %
		в отсутствие углекислоты в микролитрах	в присутствии углекислоты в микролитрах	
Asp. niger	2	7,4	49,7	+571,6
	4	32,7	110,4	+237,6
Asp. flavus	2	7,2	38,7	+437,6
	3	12,0	58,2	+385,0
	4	16,8	83,8	+398,8
Pen. chrysogenum . .	2	4,4	44,7	+915,9
	4	11,1	81,7	+636,0
Rh. nigricans	1	32,0	59,5	+ 85,9
	2	93,8	98,9	+ 5,4
	3	183,9	174,4	— 5,2

Из табл. 1 видно, что в отсутствие углекислоты конидии Pen. chrysogenum потребляют кислород медленнее, чем конидии других грибов, хотя до опыта они находились в питательном растворе больше времени. Так, за два часа по сравнению с Asp. niger и Asp. flavus потреблено ими кислорода на 68—63% меньше, а по сравнению с Rh. nigricans — на 2032%. Asp. niger и Asp. flavus потребляют почти одинаковое количество кислорода первые два часа, а затем скорость потребления кислорода Asp. niger становится больше на 95%, чем скорость Asp. flavus. Rh. nigricans потребляет на 1167—1203% больше кислорода, чем Asp. niger и Asp. flavus.

В присутствии углекислоты скорости потребления кислорода грибами, за исключением Rh. nigricans, почти одинаковы. Rh. nigricans при этих условиях потребляет на 100—150% больше кислорода, чем другие исследуемые грибы.

Если сравнить дыхание исследуемых грибов в отсутствие углекислоты с дыханием в ее присутствии, то можно прийти к заключению, что углекислота ускоряет потребление кислорода конидиями грибов, при этом вызываемое углекислотой ускорение дыхания разных грибов не одинаково. Наибольшее влияние (915%) оказывает углекислота на усвоение кислорода грибами, относительно мало потребляющими кислород в ее отсутствие, каким является Pen. chrysogenum, который потребляет за 2 часа 4,4 микролитра кислорода, и не оказывает или оказывает незначительное действие на Rh. nigricans.

В большинстве опытов величина стимулирования дыхания углекислотой уменьшается по мере продолжения опыта вследствие выделения углекислоты самими набухшими конидиями. В опыте с Rh. nigricans имеет место даже торможение дыхания углекислотой, которой в данном случае накопилось около 0,56%. Установленная в этом опыте различная степень стимулирования углекислотой дыхания разных грибов и ее постепенное уменьшение находятся в полном согласии с ранее обнаруженной зависимостью роста конидий от присутствия углекислоты в продуваемом воздухе.

Из приведенных опытов осталось неясным, участвует ли углекислота непосредственно в самом процессе дыхания плесневых грибов или ее действие на этот процесс является косвенным, обусловленным участием ее в каком-то другом процессе, идущем в растущих клетках. Для решения этого вопроса мы проследили влияние углекислоты на дыхание нерастущих клеток грибов, так называемое эндогенное дыхание, устранив тем самым

влияние углекислоты на поступление питательных веществ в клетку, за исключением кислорода, а также и на различные процессы синтеза, протекающие во время роста гриба.

Влияние углекислоты на эндогенное дыхание Aspergillus niger, Aspergillus flavus, Penicillium chrysogenum и Rhizopus nigricans

Известно, что мицелий плесневых грибов обладает большой интенсивностью эндогенного дыхания вследствие содержания в нем значительного количества запасных веществ, используемых для дыхания при отсутствии в среде источников углерода. Запасные вещества гриба состоят в основном из легкогидролизующихся полисахаридов и небольшого количества веществ, переходящих в липоидную фракцию. Скорость усвоения последних настолько мала по сравнению со скоростью усвоения углеводов, что трудно представить себе какое-либо значение жиров как «запасных веществ» [3, 6]. Поэтому для установления влияния углекислоты на поглощение кислорода мы были вынуждены употреблять малые количества мицелия, чтобы в опытах, поставленных в отсутствие углекислоты, по возможности быстрее абсорбировать ее щелочью, а в опытах, проводимых в присутствии углекислоты, чтобы избежать большого накопления ее.

Ввиду того что нам было необходимо установить влияние углекислоты на эндогенное дыхание грибов, а не сравнить эндогенное дыхание разных грибов между собой, мы применяли в зависимости от интенсивности дыхания различные количества мицелия и полученные результаты не перечисляли на единицу массы гриба (табл. 2).

Из данных, представленных в табл. 2, видно, что во всех опытах углекислота ускоряет эндогенное дыхание нерастущих клеток Asp. niger, Asp. flavus, Pen. chrysogenum и Rh. nigricans. На основании этого можно сделать заключение, что углекислота оказывает влияние непосредственно на процесс дыхания плесневых грибов.

Что касается степени стимулирования дыхания, то она не одинакова в разных опытах и зависит от вида гриба и количества применяемого мицелия. Так, например, в опыте № 5 0,22 мг мицелия Pen. chrysogenum и в опыте № 6 1,24 мг мицелия Rh. nigricans в отсутствие углекислоты совершенно не поглощали кислород, в то время как в присутствии ее, хотя и с убывающей скоростью, Pen. chrysogenum за 180 минут потребил 42,2 микролитра кислорода и Rh. nigricans в течение 90 минут 22,6 микролитра. При увеличении в опыте № 5 количества мицелия Pen. chrysogenum в три раза, поглощение кислорода имело место и в отсутствие углекислоты, но происходило вдвое медленнее, чем в присутствии ее. Помимо этого, зависимость величины стимулирования от скорости дыхания можно видеть при рассмотрении опытов с Asp. niger. Так, в опыте № 1 с 2,1 мг мицелия Asp. niger поглощение кислорода ускоряется углекислотой только на 30%. Между тем, как в опыте № 2 с тем же грибом, которого было взято в три с половиной раза меньше и вследствие этого дыхание которого в среднем происходило во столько же раз медленнее, ускорение поглощения кислорода в среднем было больше на 128%.

Стимулирование процесса дыхания углекислотой наблюдалось также в опыте с Asp. flavus, в присутствии углекислоты им потреблено кислорода на 114—104% больше, чем в отсутствие ее.

Указанная зависимость величины стимулирования от скорости дыхания, повидимому, обусловлена тем, что поглощение щелочью выделяемой углекислоты происходит недостаточно быстро для того, чтобы процесс дыхания протекал при полном ее отсутствии.

Дыхательный коэффициент

Как указывалось выше, дыхание конидий происходит за счет глюкозы, находящейся в питательной среде, и эндогенное дыхание мицелия — за

Таблица 2

Влияние углекислоты на эндогенное дыхание мицелия Asp. niger, Asp. flavus, Pen. chrysogenum и Rh. nigricans

№ опыта	Гриб	Продолжительность опыта в мин.	Количество мицелия в опыте в мг сухого веса	Потребление кислорода		Стимулирование углекислотой потребления кислорода на %
				в отсутствие углекислоты в микролитрах	в присутствии углекислоты в микролитрах	
1	Asp. niger	20		12,1	15,7	+ 29,7
		40	2,10	27,5	32,4	+ 17,8
		60		42,9	55,8	+ 30,0
2	Asp. niger	30		3,8	10,8	+184,2
		60	0,57	8,3	17,9	+115,6
		90		12,8	23,7	+ 85,1
3	Asp. flavus	60	0,37	17,4	37,3	+114,3
		120		31,5	64,3	+104,1
4	Pen. chrysogenum	30		8,3	14,2	+ 71,0
		60	0,69	17,3	34,0	+ 96,5
		90		26,3	56,5	+114,8
5	Pen. chrysogenum	60	0,22	0,0	35,7	∞
		180		0,0	42,2	∞
6	Rh. nigricans	30		0,0	12,6	∞
		60	1,24	0,0	19,7	∞
		90		0,0	22,6	∞

счет использования запасных полисахаридов. Известно, что дыхательный коэффициент равняется единице при употреблении для дыхания углеводов, а в случае использования для этой цели жиров или белков дыхательный коэффициент понижается до 0,8—0,7.

Во время дыхания грибов в отсутствие углекислоты в некоторых опытах, кроме определения поглощения кислорода, определялась выделяющаяся углекислота и вычислялся дыхательный коэффициент.

Таблица 3

Дыхательный коэффициент

Гриб	Продолжительность опыта в час.	Поглощение кислорода в микролитрах	Выделение углекислоты в микролитрах	Дыхательный коэффициент $\frac{CO_2}{O_2}$
Asp. flavus конидии	4	16,8	16,6	0,99
Asp. niger мицелий .	1,5	12,8	12.3	0,96
Pen. chrysogenum мицелий	2	35,1	35,5	1,01

Как видно из табл. 3, дыхательный коэффициент при дыхании грибов в отсутствие углекислоты почти равняется единице. При изучении дыха-

ния конидий и мицелия в присутствии углекислоты соотношения показаний опытных манометров с термобарометром указывают, что и при этих условиях дыхательный коэффициент близок к единице.

Изучение влияния углекислоты на дыхание грибов продолжается.

Выводы

1. Углекислота ускоряет дыхание растущих и нерастущих клеток плесневых грибов.
2. Углекислота непосредственно влияет на процесс дыхания грибов.
3. Дыхательный коэффициент при дыхании грибов в отсутствие и в присутствии углекислоты близок к единице.

Институт микробиологии
Академии наук СССР
Москва

Получено 4.III.1951 г.

ЛИТЕРАТУРА

1. Баринова С. А. Влияние углекислого газа на рост плесневых грибов. Микробиология, 22, 391, 1953.
2. Баринова С. А. К вопросу о значении углекислоты для жизнедеятельности плесневых грибов. I. О возможности замены углекислоты органическими кислотами. Микробиология, 22, 497, 1953.
3. Буткевич В. С., Менжинская Е. В. и Трофимова Е. И. К биохимическому происхождению лимонной и щавелевой кислот. II. Вещества мицелия как источник образования кислот. Микробиология, III, 556, 1934.
4. Костычев С. П. Физиология растений, I часть, стр. 437, 1933.
5. Умбрейт В. В., Буррис Р. Х. и Штауффер Д. Ф. Манометрические методы изучения тканевого обмена. ИЛ., 1951.
6. Фостер Д. Химическая деятельность грибов, стр. 87, 98 и 217, 1950.
7. Dixon M. Manometric methods. 1943.

ИЗМЕНЧИВОСТЬ ПЛЕСНЕВОГО ГРИБА ASPERGILLUS ORYZAE

М. Ф. Лохвицкая

Плесневый гриб Aspergillus oryzae является продуцентом протеолитических, амилолитических, пектолитических и других ферментов, нужных для различных отраслей промышленности (пищевой, текстильной и кожевенной).

Устойчивая и высокая энзиматическая активность плесневого гриба является одним из основных условий, определяющих успешность производства ферментных препаратов.

Однако практика показала, что применяемые культуры не всегда удовлетворяют этим требованиям. При длительном культивировании в лабораторных условиях у высокоактивных штаммов Asp. oryzae наблюдается падение ферментативной активности, что приводит к снижению эффективности производства.

Следовательно, при промышленном производстве ферментных препаратов весьма существенно располагать исходными культурами с высокой биохимической активностью. Не менее важно иметь надежный критерий для суждения о биохимической активности грибов. Для этого необходимо установить связь между внешними культуральными признаками гриба и его биохимическими свойствами.

В работах, посвященных использованию Asp. oryzae в промышленности, большое внимание уделяется вопросам технологии и изучению условий, благоприятствующих накоплению ферментов, а вопросы изменчивости и зависимости между строением и функцией гриба почти не освещаются.

Указания на корреляцию между амилолитической способностью гриба и формой колонии у Asp. niger имеются в работах Имшенецкого и Перовой [1], Фениксовой и Двадцатовой [3]. Мы поставили своей задачей установить степень изменчивости имеющихся в нашем распоряжении штаммов Asp. oryzae и изучить факторы, влияющие на изменение их морфологических признаков. В качестве факторов воздействия были выбраны состав питательной среды и частота пересевов. Одновременно мы старались обнаружить связь между морфологическими признаками гриба и его осахаривающей способностью.

Методика

Исследования проводились с обычными чистыми культурами Asp. oryzae и культурами, выделенными из одной споры. Всего было обследовано 23 штамма. Изучение морфолого-культуральных признаков производилось на изолированных колониях в чашках Петри на сусло-агаре. Конидиальные головки, стеригмы и конидии измерялись вскоре после их появления и повторно на культурах, вполне созревших в возрасте 14—15 дней. Ферментные препараты приготовлялись выращиванием гриба на увлажненных пшеничных отрубях при 30° в течение 42—45 часов. Осахаривающая способность определялась путем осахаривания крахмального клейстера по методу Вильштеттера, видоизмененному Калашниковым и Лифшиц, и выражалась числом амилазных единиц в 100 г воздушно-сухого препарата [2].

По морфолого-культуральным признакам все имевшиеся в нашем распоряжении штаммы можно разделить на две группы. К первой группе отнесены культуры, обладающие пушистыми колониями с поздно наступающим слабым спороношением. Эти культуры характеризовались высокой осахаривающей способностью (100—140 амилазных единиц). Ко второй группе отнесены штаммы, обладающие шерстистыми колониями, с хорошим спороношением. Штаммы этой группы характеризовались средней активностью (80—100 амилазных единиц).

Нами было установлено, что в процессе длительного культивирования пушистые штаммы первой группы изменились и дали ряд вариантов, тогда как шерстистые штаммы второй группы сохранили исходный тип. Культуры сохранялись без пересевов при комнатной температуре в обычных пробирках с ватными пробками и бумажными колпачками на сусло-агаре и на агаризованной среде Чапека. После 15 месяцев хранения культуры были высеяны в чашки Петри с сусло-агаром.

Изучение изолированных колоний показало, что штаммы первой группы дали колонии двух типов: колонии с пушистым мицелием, со слабым, поздно наступающим спороношением и колонии со слаборазвитым мицелием, с быстро наступающим обильным спороношением, напоминающие колонии Asp. flavus. Пушистые колонии со слабым спороношением представляли исходный тип культуры, а колонии с обильным спороношением — вариант, образовавшийся за время хранения. Кроме этих двух типов, наблюдались также и переходные формы — колонии с различной степенью развития мицелия и спороношения.

Определение осахаривающей способности штаммов показало, что разные варианты обладали различной активностью. Варианты с пушистым мицелием и слабым или средним спороношением, будучи взяты в виде посевного материала, давали чаще всего активные препараты. Осахаривающая способность ферментных препаратов у штамма № 378 колебалась в пределах от 102 до 145 амилазных единиц, а у штамма № 81 — от 117 до 127 амилазных единиц. Варианты со слаборазвитым мицелием и быстро наступающим обильным спороношением давали препараты в большинстве случаев с низкой активностью. Осахаривающая способность этих ферментных препаратов у штамма № 378 колебалась от 66 до 80 амилазных единиц; у штамма № 81 от 60 до 113 амилазных единиц.

Таким образом, между культуральными признаками варианта и его осахаривающей способностью наметилась некоторая корреляция. Посевы из колоний с обильным спорообразованием давали препараты с низкой осахаривающей способностью. Посевы из пушистых колоний со слабым спорообразованием давали активные препараты (табл. 1).

Для подтверждения правильности наблюдений о существовании корреляции было проведено определение осахаривающей способности у 60 образцов ферментных препаратов. Данные анализов представлены в табл. 2. Из приведенной таблицы видно, что и основной активный тип и малоактивный вариант дают колонии со значительным диапазоном биохимической изменчивости. Так, осахаривающая способность ферментных препаратов, полученных от посева из пушистых колоний, была более высокой и колебалась от 80 до 166 амилазных единиц, а от посева из колоний с обильным спорообразованием была значительно ниже и колебалась от 46 до 94 амилазных единиц.

Таким образом, у обоих вариантов можно было наблюдать в отдельных опытах увеличение активности в два раза. Однако при этом активность ниже 100 амилазных единиц у активного типа была получена всего в четырех из поставленных 30 опытов, а у малоактивного варианта активность ниже 100 амилазных единиц была получена во всех 30 опытах.

Как уже было отмечено, шерстистые штаммы второй группы после длительного хранения без пересевов не изменились и при высеве давали колонии только исходного типа (табл. 1). Однако дальнейшие наблюдения по-

Таблица 1

Изменчивость культур Asp. oryzae

Штаммы	Осахаривающая способность в амилазных единицах					Внешний вид колоний на сусло-агаре	
	исходная	после 15 мес. хранения				мицелий	спороношение
		сусло-агар		среда Чапека			
Пушистые № 378 . .	143	66	80	78	82	Слабо развит	Обильное
		107	145	102	134	Пушистый	Слабое
№ 81 . .	134	87	102	60	113	Слабо развит	Обильное
		117	127	118	117	Пушистый	Слабое
Шерстистые № 586	96	87	92	89	84	Шерстистый	Хорошее
№ 241	92	82	92	85	97	»	»

Примечание. В таблице даны минимальные и максимальные значения осахаривающей способности.

Таблица 2

Корреляция между внешним видом колоний и осахаривающей способностью гриба Asp. oryzae

(Штамм № 378, исходная активность 123 амилазные единицы)

Внешний вид колоний	Осахаривающая способность в 10 опытах									
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Мицелий пушистый. Спороношение слабое	80	104	108	113	118	118	124	129	120	145
	89	99	104	108	113	118	118	124	124	134
	87	112	117	122	129	132	137	148	155	166
Мицелий слабо развит. Спороношение обильное	46	51	56	61	61	61	70	75	80	94
	46	46	46	51	51	61	61	70	70	75
	51	51	61	61	61	66	66	70	80	84

казали, что при определенных условиях и эти устойчивые штаммы изменяются и дают варианты. Таковыми условиями оказались частые пересевы. Опыты проводились со штаммами № 586 и № 241, которые пересевались через 7 дней, 30 дней и 6 месяцев на сусло-агаре и агаризованной среде Чапека в течение 15 месяцев, после чего культуры было высеяны в чашки Петри для получения изолированных колоний. Изучение колоний показало, что культивирование на сусло-агаре с частыми пересевами через 7 дней привело к образованию малоактивных вариантов. Шерстистые колонии с хорошим спороношением, характерные для этих штаммов, отсутствовали. Полученные колонии обладали слаборазвитым мицелием и обильным спороношением, т. е. они были идентичны колониям малоактивных вариантов пушистых штаммов первой группы. Осахаривающая способность препаратов, полученных от посева из этих колоний, была низкая. У штамма № 586 были обнаружены также единичные колонии с пушистым мицелием и слабым спороношением. Осахаривающая способность препаратов, полученных от посевов из такой колонии, была высокая. При той же частоте пересевов, но на среде Чапека у штамма № 241 не было

обнаружено колоний малоактивного варианта. У штамма № 586 наблюдалась другая картина: основная масса колоний состояла из колоний малоактивного варианта, а исходный тип колоний сохранился в незначительном количестве. При культивировании с редкими пересевами — через 30 дней и через 6 месяцев — изменения колоний не произошло. Полученные данные представлены в табл. 3.

Таблица 3

Влияние частоты пересевов на изменчивость устойчивых штаммов второй группы Asp. oryzae

(Осахаривающая способность в амилазных единицах)

№ штамма	Исходная активность	Частота пересевов	Осахаривающая способность после 15 мес. культивирования				Внешний вид колоний	
			на сусло-агаре		на среде Чапека		мицелий	спороношение
586	84	7 дней	125	132	—	—	Пушистый	Слабое
			—	—	87	97	Шерстистый	Хорошее
			56	68	52	60	Слабо развит	Обильное
		30 дней	82	97	82	92	Шерстистый	Хорошее
		6 мес.	87	95	95	90	»	»
241	112	7 дней	60	60	—	—	Слабо развит	Обильное
			—	—	112	127	Шерстистый	Хорошее
		30 дней	102	107	109	97	»	»
		6 мес.	109	104	99	102	»	»

В этих опытах сказалось также заметное влияние сусла-агара как среды, способствующей изменчивости штаммов.

Для подтверждения полученных данных была проведена еще одна серия опытов. Штаммы второй группы № 80, 82 и 590 пересевались на сусло-агаре с интервалом в 10 дней на протяжении 10 месяцев, после чего культуры были высеяны на чашки Петри. Рассевы культур показали, что в течение этого времени культуры не изменились. Опыты были продолжены. Культуры пересевались еще 5 месяцев, после чего снова были высеяны на чашки Петри. Теперь наряду с исходными — шерстистыми колониями, которые составляли большинство, были обнаружены также единичные пушистые колонии и колонии со слаборазвитым мицелием и обильным спороношением, т. е. были получены активные и малоактивные варианты.

Таким образом, несмотря на то, что штаммы второй группы являются устойчивыми по своим биологическим признакам, при определенных условиях и они изменяются и дают варианты с новыми биохимическими и морфологическими признаками (табл. 4).

При проведении этих опытов большое значение имела продолжительность наблюдений, т. е. длительность воздействия определенного фактора. Так, функциональные изменения, вызвавшие соответственные морфологические изменения, были отмечены у штаммов второй группы только после пятнадцатимесячного культивирования, тогда как культивирование в течение 10 месяцев не дало изменений.

Для отбора активных штаммов среди вариантов, возникающих вследствие изменчивости гриба, весьма важно детальное знание морфологии активных культур, а также морфологии малоактивных вариантов. Поэтому для установления более глубокой корреляции, кроме изучения культуральных признаков, производились также и микроскопические исследования — измерения репродуктивных органов у культур активного типа и у культур малоактивного варианта.

Таблица 4

Влияние продолжительности культивирования на изменчивость штаммов второй группы при пересевах через 10 дней на сусло-агаре

(Осахаривающая способность в амилазных единицах)

№ штамма	Исходная активность	Осахаривающая способность после культивирования				Внешний вид колоний	
		10 мес.		15 мес.		Мицелий	Спороношение
80	102	102	107	87 148 56	78 145 56	Шерстистый Пушистый Слабо развит	Хорошее Слабое Обильное
82	87	92	97	82 127 78	78 117 73	Шерстистый Пушистый Слабо развит	Хорошее Слабое Обильное
590	97	92	107	82 132 73	87 125 60	Шерстистый Пушистый Слабо развит	Хорошее Слабое Обильное

Для этой цели использовались колонии, выращенные в чашках Петри на сусло-агаре. Проведенные исследования показали, что величина конидий и размеры стеригм у исходных культур Asp. oryzae и у образовавшихся малоактивных вариантов одинаковы или незначительно отличаются. Иная картина наблюдалась в величине конидиальных головок и ширине конидиеносцев. Малоактивный вариант по сравнению с исходным типом характеризовался более тонкими конидиеносцами и более мелкими конидиальными головками (табл. 5).

Таблица 5

Морфологическая характеристика штаммов Asp. oryzae

Штаммы		Размеры в микронах				
		ширина конидиеносцев	пузырек	стеригмы	конидии	
					шаровидные	овальные
Исходный активный тип	378	8—25	10—75	10—15 × 3—5	4—8	4—6 × 5—9
	81	5—25	10—70	8—12 × 2,5—4	4—7	4—7 × 5—8
	586	5—25	8—50	8—15 × 2—4	4—7	4—5 × 6—8
Малоактивный вариант	378	3—17	5—30	5—15 × 2,5—5	4—6	4—6 × 5—8
	81	3—16	10—50	5—17 × 2—4	4—6	4—7 × 5—8
	586	5—15	10—30	10—18 × 2,5—4	4—6	4—5 × 6—8

Для уточнения этого вопроса был произведен количественный учет конидиальных головок у активного типа и малоактивного варианта.

Все конидиальные головки были условно разбиты на 3 группы: мелкие — с пузырьками меньше 15 μ, средние — с пузырьками от 15 до 30 μ и крупные — с пузырьками от 30 μ и больше. Просматривалось от 250 до 300 конидиальных головок из трех колоний, разновременно посеянных в чашки Петри на сусло-агар.

После обработки полученного материала выяснилось, что у малоактивных вариантов преобладают конидиальные головки средней величины. Мелкие конидиальные головки встречаются в меньшем количестве, а круп-

ные отсутствуют или составляют незначительный процент. У активного типа наблюдалось большое разнообразие в размерах конидиальных головок. Преобладания конидиальных головок средней величины не было. Крупные конидиальные головки встречались так же часто, как и средние.

Подтверждением правильности сделанных выводов о корреляции морфологических признаков гриба с его осахаривающей способностью могут служить опыты по превращению малоактивного штамма в активный. Путем культивирования на отрубях с пептоном нам удалось малоактивный штамм № 84 переделать в активный. Проведенные измерения репродуктивных органов у этого штамма показали, что исходная малоактивная

Таблица 6

Характеристика конидиальных головок у исходных активных штаммов и малоактивных вариантов Asp. oryzae

№ штамма	Размер конидиальных головок	Величина пузырька в микронах	Количество головок в %	
			исходный активный штамм	малоактивный вариант
378	Крупные	От 30 и больше	20—38	1—2
	Средние	От 15 до 30	26—80	76—94
	Мелкие	Меньше 15	28—36	6—24
81	Крупные	От 30 и больше	35—79	1—3
	Средние	От 15 до 30	21—62	77—97
	Мелкие	Меньше 15	3—27	3—23
586	Крупные	От 30 и больше	12—39	3—6
	Средние	От 15 до 30	37—75	67—81
	Мелкие	Меньше 15	10—23	9—30
84	Крупные	От 30 и больше	Полученный активный вариант 18—57	Исходный малоактивный штамм 4—7
	Средние	От 15 до 30	40—74	65—86
	Мелкие	Меньше 15	4—20	7—17

культура обладала морфологическими признаками, присущими малоактивным вариантам биохимически активных штаммов, т. е. у нее преобладали конидиальные головки средней величины, а полученный из нее активный вариант характеризовался наличием крупных конидиальных головок — особенностью активных штаммов. Эти опыты дают основание считать установленную корреляцию достоверной (табл. 6).

Приношу благодарность проф. М. Н. Ротмистрову за советы при проведении данной работы.

Выводы

1. По культуральным признакам штаммы Aspergillus oryzae можно отнести к двум группам. Первая группа характеризуется пушистыми колониями и поздно наступающим слабым спорообразованием. Штаммы этой группы обладают высокой осахаривающей способностью. Вторая группа характеризуется шерстистыми колониями с хорошим спороношением. Штаммы этой группы обладают средней активностью.

2. Изучение изменчивости культур Asp. oryzae показало, что штаммы первой группы легко изменяются и образуют при этом малоактивные варианты. Штаммы второй группы являются более устойчивыми и при обычных методах культивирования сохраняют исходный тип колоний.

3. Установлена корреляция между осахаривающей способностью гриба и его морфологическими признаками, что дает возможность судить о

биохимической активности культуры по ее внешнему виду. Это позволит производить отбор активных вариантов для использования в производственных условиях.

Украинский научно-исследовательский
институт пищевой промышленности
Харьков

Получено 15.III.1954 г.

ЛИТЕРАТУРА

1. А. А. Имшенецкий и Перова К. З. Амилолитическая активность складчатых рас Aspergillus niger. Микробиология, XXII, вып. 2, 133, 1953.
2. Е. Я. Калашников и Д. Б. Лифшиц. Применение ферментных препаратов в пивоварении. Консультация по пищевой промышленности, вып. 1, 22, 1946.
3. Р. В. Феникова и Двадцатова Е. А. Получение новых рас плесневых грибов с повышенной активностью амилолитических ферментов. Известия АН СССР, Серия биол., № 2, 56, 1952.

ВЛИЯНИЕ СВЯЗАННЫХ СОЕДИНЕНИЙ АЗОТА НА АЗОТФИКСИРУЮЩУЮ АКТИВНОСТЬ КЛУБЕНЬКОВЫХ БАКТЕРИЙ В КЛУБЕНЬКАХ СОИ И ФАСОЛИ И ВЗАИМООТНОШЕНИЯ МЕЖДУ НИМИ И БОБОВЫМИ РАСТЕНИЯМИ

М. В. Федоров и *И. В. Козлов*

Проблема повышения урожайности сельскохозяйственных культур теснейшим образом связана с применением различных удобрений. Среди них существенное значение в повышении урожайности бобовых культур имеет бактериальное удобрение — нитрагин, содержащее активные культуры клубеньковых бактерий, приспособленных к сожительству с данным бобовым растением. Эти бактерии фиксируют азот атмосферы и способствуют снабжению бобового растения связанным азотом. Однако их азотфиксирующая активность находится в зависимости от многих факторов и достигает своего максимума только при определенных условиях. Среди этих факторов особо важное значение имеет наличие в среде связанных соединений азота, доступных бобовому растению. Если почва относительно бедна доступными растению азотистыми соединениями, а в клубеньках содержатся активные расы клубеньковых бактерий, то усвоение атмосферного азота идет весьма интенсивно. При наличии же в почвенном растворе достаточных количеств связанного азота тормозится как образование клубеньков, так и азотфиксирующая активность клубеньковых бактерий. Такое влияние связанных соединений азота было отмечено уже давно (Хилтнер, Hiltner [5]; Фред, Fred [6]; Торнтон, Thornthon [7]; Корсакова и Конокотина [2], Гусев [1]; Федоров [3]; Чайлахян и Меграбян [4] и другие), но до настоящего времени этот факт не имеет еще удовлетворительного объяснения. Одни исследователи связывают депрессирующее влияние минерального азота с клубеньковыми бактериями, а другие — с особым состоянием бобового растения. Корсакова и Конокотина [2], основываясь на своих опытах с люпином и соей, пришли к заключению, что азотистые соединения действуют на клубеньковые бактерии не непосредственно в почве, а после проникновения их в корневую систему бобового растения. Аналогичного мнения придерживаются Чайлахян и Меграбян [4]. Они проводили свои опыты с двухъярусной культурой корневой системы бобовых и показали, что проникновение и дальнейшее развитие клубеньковых бактерий в корнях определяются не тем количеством азота, которое находится в субстрате, а тем количеством, которое проникло в корни растения и находится в клеточном соку. Эти положения несколько выясняют характер влияния связанных соединений азота атмосферы бобовыми растениями, но они также не разрешают ряда вопросов, связанных с характером взаимоотношений между клубеньковыми бактериями и бобовыми растениями при наличии в среде минеральных соединений азота. Для уточнения некоторых из этих вопросов и были предприняты нами описываемые ниже исследования.

Наши опыты ставились в условиях вегетационного домика с соей и фасолью как в песчаных, так и в водных культурах.

Опыты с песчаными культурами преследовали цель выяснить, каков характер влияния растворимых соединений азота на азотфиксирующую

активность клубеньковых бактерий в клубеньках сои и фасоли, а опыты с водными культурами бобовых растений, а также с чистыми культурами клубеньковых бактерий должны были показать, влияют ли соли азота непосредственно на клубеньковые бактерии или их воздействие происходит через посредство бобового растения и связано с изменением взаимоотношений между ним и клубеньковыми бактериями.

В качестве испытуемых растений были использованы: соя (сорт Куйбышевский 77 — растение длинного дня) и фасоль (сорт Бомба белая, местная, сорт также позднеспелый).

Соответственно были использованы клубеньковые бактерии: сои — лабораторный штамм № 631 и фасоли — штамм № 673.

Растения выращивались в стеклянных сосудах с 7,5 кг кварцевого песка, к которому было добавлено для лучшей аэрации 400 г обыкновенного древесного угля, предварительно многократно промытого и измельченного до частиц размера 0,5—0,8 см в диаметре. Питательной средой для выращивания растений служила 1-я смесь Гельригеля [1] в следующей модификации: одна половина нормы потребного количества фосфора вносилась в виде однозамещенного фосфорнокислого калия, а другая — в виде двухзамещенного фосфорнокислого калия, из микроэлементов вносились бор (1,2 мг/кг) и молибден (0,96 мг/кг).

В опыте использовались следующие варианты снабжения растения связанным азотом: 1) без азота; 2) 0,05; 3) 0,2; 4) 0,4; 5) 0,6; 6) 0,8; 7) 1,0; 8) 1,5 и 9) 2,0 нормы от смеси Гельригеля.

Повторность опытов была трехкратная в 1951 г. и двукратная в 1952 г. Азот вносился сразу при набивке сосудов.

Стерилизация сосудов проводилась в автоклаве при 1,5 атм. давления пара в течение двух часов. Семена стерилизовались крепкой серной кислотой ($d = 1{,}84$) в течение трех минут для сои и двух — для фасоли. В каждом сосуде выращивалось по 4 растения.

Уборка растений производилась в период полного созревания.

Общий азот в урожае определялся методом Кьельдаля. Количество азота, фиксированного бактериями из воздуха, учитывалось по разности между общим количеством накопленного азота в растении и количеством внесенного в сосуд минерального азота.

Результаты этих опытов приводятся в табл. 1 и 2 (стр. 536).

Результаты этих опытов показали, что при отсутствии связанного азота в среде или же при малых его дозах, не превышающих 0,2 нормы от смеси Гельригеля, фасоль гибнет, несмотря на инокуляцию ее семян активной культурой клубеньковых бактерий. Только при наличии в среде 0,4—0,8 нормы азота от смеси Гельригеля растения хорошо развиваются и фиксируют много атмосферного азота. В этих вариантах опыта был получен наибольший урожай и фиксация атмосферного азота достигла 770—950 мг на сосуд. При выращивании же растений на среде с 2,0 нормами нитратного азота от смеси Гельригеля урожай растений был столь же высоким, но на корнях растений совсем не было клубеньков и фиксация азота атмосферы не имела места. Из этих данных следует, что наиболее благоприятные условия для фиксации азота атмосферы создаются при выращивании фасоли на среде, обеспеченной связанными формами азота в пределах 0,4 —0,6 нормы от смеси Гельригеля (252—360 мг азота на сосуд). Более высокие дозы постепенно снижают азотфиксирующую активность клубеньковых бактерий, а при 2,0 нормах азота (1260 мг на сосуд) она полностью прекращается. Аналогичные результаты были получены и с соей, что легко установить из данных табл. 2.

При тех же условиях опыта соя дала меньший урожай и меньшее накопление азота в урожае, чем фасоль, но влияние нитратного азота оказа-

[1] На 1 кг песка с 1-й смесью питательных солей Гельригеля вносится: $Ca(NO_3)_2$ — 0,492 г, KH_2PO_4 — 0,136 г, $MgSO_4$ (без H_2O) — 0,06 г, KCl — 0,075 и $FeCl_3$ — 0,025 г. Эта смесь содержит на 1 кг песка 84 мг азота, а на сосуд с 7,5 мг песка — 630 мг азота.

Таблица 1

Влияние нитратного азота на образование клубеньков, урожай фасоли и усвоение азота из воздуха клубеньковыми бактериями фасоли

(Среднее из двух повторностей)

Варианты опыта по дозировкам нитратного азота (в нормах от смеси Гельригеля)	Дано азота на сосуд в мг	Корни и клубеньки					Накоплено азота в мг, в том числе			Фиксировано азота из воздуха в мг
		вес корней в г	число клубеньков	объем клубеньков в мл	вес клубеньков в г	общий вес растений в г	в корнях	в клубеньках	всего на сосуд	
Контроль (без азота)	—	—	—	—	—	—	Растения погибли			
0,05	31,5	—	—	—	—	—	То же			
0,2	126	—	—	—	—	—				
0,4	252	4,15	1028	5,5	0,54	36,09	63,1	25	1021,8	769,8
0,6	380	6,3	1269	7,9	0,93	47,16	94,8	32	1332,7	954,7
0,8	504	6,27	1135	7,0	0,60	46,7	95,3	27	1305,9	801
1,0	630	5,97	765	4,0	0,47	46,9	89,6	16	1315,0	685
1,5	945	6,82	540	2,8	0,28	40,0	104,7	11	1069,5	123
2,0	1260	6,71	—	—	—	41,7	104,5	—	1130,5	0,0

Таблица 2

Влияние нитратного азота на образование клубеньков, урожай сои и усвоение азота атмосферы клубеньковыми бактериями сои

(Среднее из трех повторностей)

Варианты опыта по дозировкам нитратного азота (в нормах от смеси Гельригеля)	Внесено нитратного азота в мг	Воздушно сухой вес растений в мг				Баланс азота		Фиксировано азота из воздуха в мг
		корни	надземная часть	бобики	клубеньки	содержание азота в урожае в мг	остаток азота в сосуде в мг	
Контроль (без азота)	0,00	Растения погибли		—	—	—	—	—
+0,05	31,5			—	—	—	—	—
+0,20	126,0	1,91	12,30	1,69	0,15	299,7	0,00	173,6
+0,40	252,0	2,66	20,23	3,80	0,39	545,2	0,00	293,2
+0,60	378,0	4,29	24,99	7,35	0,76	808,6	0,00	428,6
+0,80	504,0	4,20	25,80	7,30	0,65	800,4	0,00	247,4
+1,00	630,0	4,18	26,24	7,46	0,26	810,9	0,00	180,9
+1,50	945,0	4,60	28,90	8,60	—	842,9	83,0	0,0
+2,00	1260,0	5,10	30,40	9,40	—	983,0	242,0	0,0

лось совершенно однотипным. При наличии в среде 1,5 и 2,0 норм азота от смеси Гельригеля был получен наиболее высокий урожай, но клубеньки у этих растений также не образовались и никакой фиксации атмосферного азота не наблюдалось. При наличии же в среде только 0,6 нормы азота от смеси Гельригеля урожай мало уступал предыдущим вариантам, но 428,6 мг азота (более половины азота урожая) было взято из воздуха. В этом варианте азотфиксирующая активность клубеньковых бактерий сои достигла своего максимума. Из приведенных данных с определенностью следует, что небольшие дозы связанного азота в среде создают наиболее благоприятные условия для азотфиксирующей активности клубеньковых бактерий как у сои, так и у фасоли.

После установления характера влияния связанных соединений азота на азотфиксирующую активность клубеньковых бактерий в условиях песчаной культуры нами были поставлены опыты в водных культурах.

В этих опытах растения сои и фасоли выращивались в стеклянных сосудах, вмещающих 5,5 л питательной смеси. Азот вносился сразу по всем вариантам только в одной серии опытов, использованной для визуального наблюдения за сроками появления клубеньков. В другой же серии опытов азот вносился лишь после образования клубеньков.

Такое варьирование по внесению азота давало нам возможность проследить как состояние уже возникших клубеньков, так и состояние находящихся в них клубеньковых бактерий. Результаты этих опытов приводятся в табл. 3 и 4 (стр. 538).

Рис. 1. Корни фасоли с клубеньками при выращивании растений в среде с разным содержанием нитратного азота. Слева направо: 1,5; 1,0; 0,8; 0,6; 0,4 и 0,2. Нормы азота от смеси Гельригеля

Из данных этих таблиц можно видеть, что после дополнительного внесения азота больше всего возникло клубеньков у растений в вариантах с 0,4 и 0,5 нормы азота от смеси Гельригеля. Последующее увеличение концентрации азота в среде привело к полному исчезновению (рис. 1) уже возникших до этого клубеньков (в вариантах с 0,8, 1,0 и 1,5 нормы азота по Гельригелю).

Затем, при дальнейшем росте и развитии растений, когда значительная часть дополнительно внесенного азота ими была уже использована, на корнях растений этих вариантов (кроме последнего варианта) начали вновь возникать клубеньки. При просмотре среза клубенька под микроскопом было обнаружено, что бактероидная ткань густо набита вполне жизнедеятельными бактериями. Этот факт подтверждает ранее установленное Федоровым [4] положение, что под влиянием солей азота клубеньковые бактерии, проникшие в корень бобового растения, лишь ограничивают активность своего развития, но не теряют жизнеспособности полностью.

Угнетение активной деятельности клубеньковых бактерий в клетках корневой системы бобового растения происходит, видимо, под влиянием самого растения. Весьма возможно, что при достаточном поступлении в корневую систему бобового растения растворимых азотных соединений

Таблица 3

Влияние нитратного азота на возникшие клубеньки сои и азотфиксирующую активность клубеньковых бактерий

(Среднее из двух определений)

Варианты опыта по дозировкам нитратного азота (в нормах от смеси Гельригеля)	Дано азота до появления клубеньков в мг	Возникло клубеньков	Добавлено азота после появления клубеньков в мг	Исчезло клубеньков	Вновь появилось клубеньков	Вес воздушно-сухой массы в г				Азот в урожае в мг	Фиксировано азота из воздуха в мг
						корни	листья + стебли + бобики	клубеньки	общий вес урожая		
0,05	23,1	66	—	—	—	—	Растения погибли			—	—
0,2	23,1	69	69,3	—	220	1,89	8,57	0,55	11,0	251	159
0,4	23,1	72	161,7	—	348	3,65	19,15	0,80	23.6	532	347
0,6	23,1	71	254,1	—	368	3,49	21,17	0,82	25,48	548	271
0,8	23,1	66	346,5	66	310	3,40	20,40	0,41	24,2	539	169
1,0	23,1	67	438,9	67	180	3,32	21,20	0,22	24,74	542	103
1,5	23,1	73	670	73	—	3,65	24,60	—	28,05	612	0,0

Примечание. Питательная смесь Гельригеля для водных культур имела тот же состав, что и для песчаных культур, но азот вносился из расчета 84 мг на 1 л питательного раствора, или 462 мг азота на сосуд с 5,5 л раствора.

Таблица 4

Влияние нитратного азота на уже возникшие клубеньки у фасоли и азотфиксирующую активность клубеньковых бактерий в клубеньках

Варианты опыта по дозировкам азота (в нормах от смеси Гельригеля)	Добавлено азота до появления клубеньков в мг	Возникло клубеньков	Добавлено азота после появления клубеньков в мг	Исчезло клубеньков	Вновь появилось клубеньков	Общий вес растений с корнями в мг	Общий азот в растениях в мг	Фиксировано азота из воздуха в мг
0,10	46,2	67	Растения погибли		—	—	—	—
0,2	46,2	68	46,2	—	372	14,60	440	348
0,4	46,2	71	161,7	—	1069	20,95	682	497
0,6	46,2	69	254,1	—	1221	27,10	801	524
0,8	46,2	72	346,5	53	758	25,60	779	409
1,0	46,2	78	438,9	73	430	23,40	709	247
1,5	46,2	68	670,0	68	0,0	28,2	792	0,0

настолько усиливаются синтетические процессы, что приток к клубеньку безазотистых органических веществ сильно ограничивается, а без них интенсивное развитие бактерий, как известно, происходить не может. Максимальная фиксация азота атмосферы и в этих опытах происходила только при умеренном снабжении азотом (0,4—0,6 нормы азота от смеси Гельригеля).

Наличие клубеньков на корнях бобовых растений оказалось зависящим от питания растений минеральным азотом в такой мере, что при увеличении дозы азота в среде даже хорошо сформировавшиеся клубеньки исчезают как образования, явно ненужные растению. Однако и в период отсутствия их на корневой системе клубеньковые бактерии все же остаются в тканях корня в жизнедеятельном состоянии, и, как только избыточные дозы азота будут растением использованы, они вновь активируются и на корнях растения вновь образуются клубеньки. Эти факты представляют существенный теоретический интерес, но они требуют дополнительных

исследований для выяснения причины задержки развития или даже полного сбрасывания клубеньков в присутствии значительных количеств связанного азота в среде. Некоторые дополнительные данные нами были получены в опытах с изолированием отдельных частей корневой системы бобового растения и созданием для каждой части корней особых условий питания связанным азотом.

Сущность этих опытов заключалась в том, что семена фасоли предварительно проращивались в песке, содержащем 0,1 нормы азота по Гельригелю, до образования клубеньков. После этого молодые растения переносились в условия водной культуры, но с разделением корней растений на две равные части. Одна половина корней с клубеньками помещалась во внутренний сосуд, а другая — в наружный. Внутренний сосуд удерживался в середине наружного сосуда пазом деревянной крышки, покрывавшей оба сосуда.

Отверстия в крышке сосуда, предназначенные для растений, находились над ребром внутреннего сосуда, которое являлось как бы «седлом», делящим корни растения на две равные части. Это седло покрывалось, во избежание пореза корней, тонким слоем корковой пробки, предварительно пропарафинированной. Раствор в наружном и во внутреннем сосуде аэрировался продуванием воздуха через стеклянные распылители.

В этих опытах были использованы два варианта азотного питания:

1) питательная смесь с 0,5 нормы азота в наружном сосуде и питательная смесь с 1,0 нормой азота во внутреннем сосуде;

2) питательная смесь с 0,2 нормы азота в наружном сосуде и питательная смесь с 1,5 нормы азота во внутреннем сосуде.

Результаты опыта показали, что на той части корневой системы одного и того же растения, которая находилась в среде с обильным азотным питанием, ранее возникшие клубеньки либо исчезали совсем (вариант 2), либо сохранялись в том же количестве (варинт 1). На другой же части корневой системы, находящейся в среде с малой дозой азота, клубеньки вновь образовались в большом количестве (рис. 2) и находившиеся в них клубеньковые бактерии активно усваивали атмосферный азот. Благодаря этому растения получили за 30—40 дней опыта около 240 мг азота за счет атмосферы, хотя в наружном сосуде у них и осталась часть нитратного азота неиспользованной. Все эти особенности легко выясняются из данных табл. 5 и 6.

Таблица 5

Влияние нитратного азота на образование клубеньков у фасоли при изолированной культуре корней, получавшей разные дозировки азота

Варианты опыта	Добавлено азота в мг		Клубеньки			Сухой вес растений в г		
	наружный сосуд	внутренний сосуд	число	объем в мм	вес в г	корни	надземная часть	общий вес с клубеньками
Питательная смесь	126	252	372	3,1	0,51	2,61	14,90	18,02
+0,5/1,0 нормы азота	126	252	359	3,0	0,43	2,49	14,05	16,97
Питательная смесь	51	378	427	4,4	0,61	2,72	15,80	19,13
+0,2/1,5 нормы азота	51	376	381	3,0	0,41	2,61	13,96	16,98

Из этих данных следует, что, несмотря на своеобразные условия азотного питания растений, они образовали значительное количество клубеньков и дали довольно высокий урожай, хотя клубеньки образовались толь-

Таблица 6

Фиксация атмосферного азота клубеньковыми бактериями фасоли при изолированной культуре корней в растворах с различной концентрацией нитратного азота

Варианты опыта	Добавление азота на сосуд			Накопление азота в растениях в мг			Осталось неиспользованного минерального азота в мг	Фиксировано азота из воздуха в мг
	наружный	внутренний	всего	корни с клубеньками	надземная часть	всего		
Питательная смесь	126	252	378	95	461	556	56	234
+ 0,5/1,0 нормы азота по Гельригелю	126	252	378	90	435	525	61	208
Питательная смесь	51	378	429	103	489,8	593	98	262
+0,2/1,5 нормы азота по Гельригелю	51	378	429	96	434	530	129	230

ко на одной половине корневой системы, находящейся в среде с малой дозой минерального азота. На другой же половине корневой системы, находившейся в среде с высокой дозой минерального азота, клубеньков не было. Минеральный азот вызвал торможение в образовании клубеньков на корнях, которые непосредственно соприкасались с раствором, содержа-

Рис. 2. Корень фасоли с клубеньками при изолированном питании азотом отдельных его частей. Слева направо: 1) 0,5/1,0 нормы азота и 2) 0,2/1,5 нормы азота от смеси Гельригеля. В обоих случаях половина корня, находившаяся в среде с малой дозой азота, имеет много клубеньков

щим избыточные дозы азота. Повидимому, в этих участках корня или создавалась повышенная концентрация минерального азота в клеточном соку, мешающая развитию бактерий и проявлению ими своей активности, или же в них настолько интенсифицировались процессы обмена, что все подтекающие к этим частям корня углеводы полностью потреблялись растением в процессах дыхания и синтеза клеточного вещества. В послед-

нем случае на долю клубеньковых бактерий не остается доступных источников энергетического материала и они лишаются возможности развиваться и осуществлять азотфиксацию.

Из этих двух возможностей наиболее вероятной нам представляется вторая, так как первая возможность отпадает в связи с высокой устойчивостью бактерий к минеральному азоту в условиях чистой культуры, о чем будут приведены данные ниже.

Быстрое использование минерального азота той частью корня, в которую он диффундирует из среды с высокой дозой, очевидно, исключает его диффузию по всему корню. Благодаря этому образование клубеньков второй половиной корневой системы, находящейся в среде с малой дозой минерального азота, может осуществляться вполне нормально. Эта половина оказывается как бы самостоятельной и клубеньковые бактерии могут в ней фиксировать азот с достаточной активностью (рис. 2). Столь значительная самостоятельность отдельных частей корневой системы растений представляет общебиологический интерес.

Половина корневой системы фасоли, находившаяся в среде с малыми дозами минерального азота, не только образовала значительное количество клубеньков, но и находившиеся в них клубеньковые бактерии фиксировали довольно много молекулярного азота, несмотря на то, что вторая половина корневой системы имела избыток связанного азота и не смогла за период опыта использовать его полностью. Количества фиксированного в этих опытах атмосферного азота приводятся в табл. 6.

Азотфиксирующая активность клубеньковых бактерий в клубеньках, образовавшихся только на одной половине корней, оказалась весьма высокой и привела к накоплению 208—262 мг азота за счет атмосферы. Крайне любопытно, что столь интенсивная фиксация азота была развита бактериями, несмотря на то, что другая часть корней имела в своем распоряжении избыточное количество минерального азота и не смогла его полностью использовать. Во внутреннем сосуде от 51 до 129 мг минерального азота остались неиспользованными.

Подобное поведение двух частей корневой системы одного и того же растения показывает, что тормозящее влияние на образование клубеньков и фиксацию атмосферного азота клубеньковыми бактериями оказывают только те количества минерального азота, которые непосредственно проникли в корень и вызвали в данном месте корня изменение его физиологического состояния. Изменения же в корневой системе бобового вообще, как это следовало из опытов Чайлахяна и Меграбян [4], не имеют существенного значения.

В связи с тем, что депрессирующее влияние минерального азота на азотфиксирующую активность клубеньковых бактерий в клубеньках можно было бы объяснить еще и воздействием на них повышенных концентраций нитратного азота, нам представилось целесообразным установить, как будут влиять на развитие клубеньковых бактерий те же дозы минерального азота в условиях чистой культуры. Этот вопрос, как известно, до настоящего времени также еще не имеет окончательного решения. Для получения соответствующих данных нами были поставлены опыты с чистыми культурами клубеньковых бактерий сои, фасоли и гороха. Испытание их проводилось как на бобовом отваре, так и на минеральной безазотистой среде для культуры азотобактера (модификация Федорова). Питательная среда наливалась по 50 мл в колбы Эрленмейера объемом на 150 мл, и к ней добавлялись аммиачные и азотнокислые соли в концентрации от 0,0012 моля и кончая 0,24 моля. Последняя доза соответствует 40 нормам от смеси Гельригеля, использовавшейся в опытах с растениями. При использовании дозировок азота выше 0,03 моля к питательной среде добавлялась фосфатная буферная смесь (на 25 мл среды 25 мл буферной смеси) для поддержания pH раствора на уровне 6,5—7,0. Продолжительность опытов варьировала от трех недель до двух месяцев. По окончании опы-

тов в среде определялись остаточный минеральный азот (колориметрически) и сахар (по Бетрану).

Результаты этих анализов, а также счет выросших клеток показали, что клубеньковые бактерии сои, фасоли и гороха выдерживают весьма высокие концентрации минерального азота в среде (при pH = 7,0). Даже при 0,24 моля нитрата, что соответствует 40 нормам азота от смеси Гельригеля, они еще продолжают потреблять сахар с заметной скоростью, а при 10 нормах развиваются вполне нормально (табл. 7). Это обстоятельство указывает на то, что высокие дозы нитратного и аммиачного азота в среде не тормозят развития клубеньковых бактерий сои и фасоли. И если выращивание растений в среде с 1,0 или 1,5 нормы азота почти полностью исключает образование клубеньков и препятствует проявлению азотфиксирующей активности клубеньковыми бактериями в клубеньках, то, очевидно, тормозящим фактором является действительно физиологическое состояние самого растения. Весьма возможно, что при усиленном питании минеральным азотом в клетках корня идет столь быстрое превращение подтекающих углеродистых соединений, что бактерии не могут получить в нужном количестве энергетический материал и в силу этого переходят в недеятельное анабиотическое состояние.

Таблица 7

Интенсивность использования сахара клубеньковыми бактериями сои, фасоли и гороха при разной концентрации нитратного азота в минеральной среде

(Среднее из двух определений)

Штаммы клубеньковых бактерий	Содержалось азота в 50 мл среды		Использовано сахара при нитратном азоте в мг	Использовано сахара при аммиачном азоте в мг
	в мг	в нормах от смеси Гельригеля		
Соевый № 637	21	5	924	822
	37,8	9	872	831
	63	15	816	800
	84	20	262	523
	105	25	108	500
	126	30	96	270
	168	40	Нет	160
	21	5	847	730
Фасолевый № 673	37,8	9	808	740
	63	15	730	650
	84	20	286	425
	105	25	170	400
	126	30	140	220
	168	40	Нет	Нет
	21	5	986	880
Гороховый № 248	37,8	9	934	870
	63	15	870	850
	84	20	192	730
	105	25	150	420
	126	30	Нет	175
	168	40	»	170

Выводы

1. Усвоение атмосферного азота растениями сои и фасоли находится в зависимости от интенсивности образования на их корнях клубеньков и азотфиксирующей активности находящихся в них клубеньковых бактерий.

2. При полном отсутствии в питательной среде азота или же при ни-

ничтожном его содержании растения гибнут раньше, чем на их корнях возникают клубеньки. При высокой же дозе нитратного азота растения хорошо растут, дают высокий урожай, но на корневой системе у них клубеньки не возникают, и такие растения совсем не фиксируют атмосферного азота. Число клубеньков, их объем и вес увеличиваются на корнях растения по мере увеличения концентрации азота в среде до тех пор, пока его содержание не будет превышать 0,5—0,6 нормы от смеси. При этих условиях растения наиболее продуктивно усваивают азот из атмосферы.

Поэтому следует считать целесообразным внесение небольших доз азотных удобрений под бобовые культуры на почвах, бедных собственным запасом подвижного азота. При этом устраняется период азотного «голодания» бобовых растений, и это благоприятно сказывается на их росте, образовании и формировании клубеньков и усвоении клубеньковыми бактериями атмосферного азота.

3. Обильное снабжение растений связанным азотом приводит к сбрасыванию уже образовавшихся клубеньков, хотя бактерии и остаются в тканях корня в достаточно активном состоянии и способны вновь вызвать образование клубеньков, как только связанный азот из среды будет использован.

4. Обильное снабжение связанным азотом одной части корней бобового растения не оказывает влияния на образование клубеньков и активное усвоение атмосферного азота другой частью корней того же самого растения.

5. Большие дозы растворимых азотистых соединений не исключают успешного развития клубеньковых бактерий в условиях чистой культуры. Поэтому регулятором образования клубеньков или же их сбрасывания после образования следует признать не клубеньковые бактерии, а физиологическое состояние бобового растения, зависящее в свою очередь от его азотистого питания. При поступлении в корневую систему бобового растения минерального азота растение, повидимому, не может снабжать клубеньковые бактерии безазотистыми органическими веществами в нужном количестве, так как при этих условиях оно само использует их в процессах собственной жизнедеятельности.

Московская сельскохозяйственная академия
им. К. А. Тимирязева

Получено 19.II.1954 г.

ЛИТЕРАТУРА

1. Гусев Н. А. Действие минеральных удобрений на образование клубеньков у красного клевера. Химизация соцземледелия, № 7, 40, 1939.
2. Корсакова М. П. и Конокотина А. А. Минеральное питание бобового и усвоение азота. Тр. Всесоюзного ин-та с.-х. микробиологии, VIII, вып. 2, стр. 5, 1936.
3. Федоров И. В. Влияние органических веществ на образование клубеньков у гороха в условиях монобактериальной культуры. Тр. Московской с.-х. академии им. К. А. Тимирязева, вып. 30, 43, 1945.
4. Чайлахян М. Х. и Меграбян А. А. Влияние растворимых азотистых соединений на образование клубеньков на корнях бобового растения. ДАН СССР, 48, № 2, 145, 1945.
5. Hiltner L. Ueber die Impfung der Leguminosen mit Reinkulturen. Deutsche Landw. Presse, 29, 119, 1902.
6. Fred E. and Graul E. The effect of soluble nitrogenous salts on nodule formation. J. Amer. Soc. Agric., 8, 316, 1916.
7. Thornthon H. The effect of fresh straw on the growth of certain legumes. J. Agric. Sci., 19, 563, 1929.

ВЛИЯНИЕ КОРНЕВЫХ ВЫДЕЛЕНИЙ ГОРОХА И КУКУРУЗЫ НА РАЗВИТИЕ НЕКОТОРЫХ ПОЧВЕННЫХ МИКРОБОВ В УСЛОВИЯХ ВЫРАЩИВАНИЯ ИХ В РИЗОСФЕРНОМ РАСТВОРЕ РАСТЕНИЙ

Н. В. Мешков и *Р. Н. Ходакова*

Известно, что в ризосфере растения в зависимости от биологических особенностей данного вида развивается преимущественно более или менее свойственная ему специфическая микрофлора. Специфичность микрофлоры ризосферы разных видов растений в значительной степени обусловлена их корневыми выделениями. Так, например, Красильников [3] показал, что корневые выделения кукурузы и пшеницы благоприятно влияли на развитие неспороносных бактерий типа Bact denitrificans и Bact. fluorescens и угнетали развитие Bac. mycoides и Bac. megatherium. Азотобактер не развивался в ризосфере пшеницы и очень слабо развивался в ризосфере кукурузы. Клетки Saccharomyces cerevisiae также слабо реагировали на действие корневых выделений при культивировании их в пробирках с ризосферным раствором.

В наших опытах [4] также было показано, что корневые выделения гороха более благоприятно влияют на развитие Azotobacter chroococcum, Pseudomonas aurantiaca и Torula, чем корневые выделения кукурузы.

Многие авторы при изучении влияния корневых выделений на развитие почвенных микроорганизмов в зависимости от вида растений часто не учитывали развития последних. Надо полагать, что влияние корневых выделений на размножение микробов зависит не только от вида, но и от состояния растений. Как показали наши исследования, количество редуцирующих сахаров [6] и витаминов — тиамина и биотина [5] в корневых выделениях определяется развитием растений.

Учитывая это обстоятельство, мы провели опыты по изучению влияния корневых выделений на размножение некоторых почвенных микробов с учетом урожая, испытуемых сельскохозяйственных культур. В качестве объектов мы взяли горох и кукурузу.

При выборе объектов исследования мы остановились на горохе и кукурузе именно потому, что в указанных выше наших работах содержание сахаров и витаминов определялось в корневых выделениях этих растений

Растения выращивались целиком в замкнутых, лишенных микроорганизмов сосудах, каждый из которых вмещал в себе 250 мл водного питательного раствора. Методика выращивания растений в стерильных замкнутых сосудах нами опубликована ранее [4]. Стерилизация сосудов, предварительно заполненных питательной смесью Гельригеля, производилась в автоклаве при 120° в течение часа.

Посев производился стерилизованными семенами посредством опускания их через посевную трубку сосуда. Семена стерилизовались в течение 1½ минуты серной кислотой удельного веса 1,84. После удаления ее из стерилизатора и тщательной промывки стерильной водой семена дополнительно обрабатывались раствором сулемы в концентрации 1 : 1000 в течение 15 минут. При этом, в целях достижения полной стерильности семян, через каждые 5 минут менялся раствор сулемы.

Контролем, служила полная минеральная питательная смесь Гельригеля, применявшаяся нами для выращивания растений. Для этой цели питательная смесь в сосудах оставлялась без растений до конца опыта.

После погружения корешков растения на некоторую глубину в питательный раствор сосуды ежедневно продувались при помощи трубки с ватным фильтром на одном конце. В целях сохранения одинаковых условий опыта сосуды без растений также продувались одновременно с сосудами с растениями.

Исследование действия корневых выделений на развитие отдельных представителей почвенной микрофлоры производилось посредством выращивания их в ризосферном растворе, взятом из-под стерильных культур растений. Для этого как опытный (ризосферный), так и контрольный (хранившийся в сосудах без растений) растворы стерильно сливались из сосуда через боковой его тубус в градуированные на 10 мл стерилизованные пустые пробирки. Питательные растворы из сосудов предварительно проверялись на стерильность путем засева в пробирки с МПБ.

В данном случае под термином «ризосферный раствор» понимается полная минеральная питательная смесь, несколько обогащенная органическим веществом вследствие развития в нем корневой системы растения.

Содержимое в пробирках тоже проверялось на стерильность. Для этой цели пробирки с ризосферным и контрольным растворами ставились в термостат с температурой 26—28° сроком на 4—5 дней. В опытах использовались только пробирки со стерильным раствором.

Влияние корневых выделений на размножение бактерий определялось по изменению числа бактериальных клеток в ризосферном растворе испытуемых растений в течение опыта. Количественный учет бактерий в культурах опытного и контрольного растворов производился по методу счета колоний на чашках Петри.

В работе наряду с изменением числа клеток бактерий в течение опыта приводятся отношения количеств развившихся клеток к исходному их числу. Это значительно облегчает установление интенсивности развития отдельных видов бактерий в культурах при сильном варьировании исходного содержания их клеток.

Для более наглядного показа интенсивности развития бактериальных культур (в зависимости от вида бактерий и растений) в ризосферных растворах по сравнению с контрольным раствором мы приводим кривые нарастания численности бактериальных клеток в течение опыта. При этом исходное содержание бактерий принято за единицу. Таким образом, кривые выражают возрастание числа бактериальных клеток в культурах по сравнению с первоначальным их содержанием. Все приведенные в настоящей работе кривые составлены из средних показателей нарастания числа бактерий в параллельных культурах для каждого вида бактерий в отдельности как в ризосферном, так и контрольном растворах.

Экспериментальная часть

Для изучения влияния корневых выделений на жизнедеятельность некоторых представителей почвенных бактерий использовалась полная питательная смесь Гельригеля, находившаяся в течение одного месяца под культурой гороха и кукурузы в стерильных замкнутых сосудах. Контролем служила культура испытуемых бактерий в той же питательной смеси, но хранившейся в течение опыта в сосудах без растений.

Растения после уборки высушивались в сушильном шкафу при 80° до постоянного веса. Ниже приводятся данные урожаев опытных растений (табл. 1).

Таблица 1

Сравнительные данные по сухому весу гороха и кукурузы в граммах

Растение	Наземная масса	Корни	Всего
Горох	0,2254	0,0614	0,2868
Кукуруза	0,2073	0,0580	0,2653

Приведенные данные показывают, что вес сравниваемых культурных растений был более или менее одинаков с некоторым преимуществом на стороне гороха.

Исследования влияния корневых выделений этих растений на развитие некоторых бактерий проводились в больших стерильных пробирках

(17 × 1,5 см), содержащих по 10 мл ризосферного и контрольного растворов. Для заражения растворов микроорганизмами приготовлялись пробирки с водной суспензией семисуточных культур исследуемых бактерий. Одинаковые по объему количества бактериальной суспензии каждого вида бактерий вносились в две параллельные пробирки с ризосферным и контрольным растворами.

Исходное число бактериальных клеток и степень их развития в указанных растворах определялись через одинаковые промежутки времени посредством высева содержимого пробирок на плотные агаризованные питательные среды.

Для проведения настоящего опыта были использованы три вида неспороносных бактерий: Ps. aurantiaca, Rhiz. leguminosarum и Az. chroococcum и три вида спороносных бактерий Bac. megatherium, Bac. cereus и Bac. mycoides.

Количественный учет бактерий, развивающихся в культурах ризосферного и контрольного растворов, производился для Ps. aurantiaca, Bac. megatherium, Bac. cereus и Bac. mycoides на МПА, Az. chroococcum — на агаризованной среде Эшби и Rh. leguminosarum — на бобовом агаре.

Таблица 2

Сравнительные данные развития отдельных культур бактерий в ризосферном растворе гороха

(Число бактерий в тысячах в 1 мл среды)

Название бактерий	Исходное число бактерий при заражении	Изменение числа бактериальных клеток в ризосферном растворе после заражения					
		через 7 дней	через 15 дней	через 23 дня	через 31 день	через 39 дней	через 47 дней
Pseudomonas aurantiaca	95	6 265	86 158	156 150	469 000	372 400	362 000
	93	6 108	87 588	161 610	489 600	428 400	358 600
Bac. megatherium	56	1 160	2 547	1 300	630	149	
	54	1 167	2 568	1 300	657	176	
Bac. cereus	186	852	2 180	3 136	3 465	1 928	3 467
	182	855	2 180	3 200	3 421	2 036	3 505
Bac. mycoides	78	173	73	72	103	45	42
	77	171	75	92	103	46	42

Результаты учета бактерии, культивируемых в параллельных пробирках с ризосферными растворами гороха, кукурузы и с контрольным раствором (хранившимся в сосудах без растений), приведены в табл. 2, 3 и 4.

Приведенные в этих таблицах данные показывают, что в течение опыта колебания в числе бактериальных клеток (при одинаковом их исходном содержании) дают довольно однообразную картину в параллельных культурах всех испытуемых бактерий.

Корневые выделения гороха и кукурузы оказывают положительное действие на развитие псевдомонаса. Максимум нарастания числа клеток этого микроба приходится на 31-й день культивирования и превышает первоначальное их содержание в 5,0 тыс. раз в ризосферном растворе

Таблица 3

Сравнительные данные развития отдельных культур бактерий в ризосферном растворе кукурузы

(Число бактерий в тысячах в 1 мл среды)

Название бактерий	Исходное число бактерий при заражении	Изменение числа бактериальных клеток в ризосферном растворе после заражения					
		через 7 дней	через 15 дней	через 23 дня	через 31 день	через 39 дней	через 47 дней
Preudomonas aurantiaca	104	6 877	82 666	125 660	295 680	150 840	
	101	6 894	85 038	129 840	295 240	155 380	
Rhizobium leguminosarum	498	9 932	129 360	249 000	128 250	178 880	112 710
	463	9 954	129 545	246 200	127 870	178 490	146 310
Azotobact. chroococcum	4,4	254	3 124	2 520	2 488	2 704	639
	4,4	260	2 970	2 472	2 496	2 769	693
Bac. megatherium	72	1 027	1 690	4 149	18 624	1 331	
	71	1 008	1 700	4 095	17 932	1 265	
Bac. cereus	163	65	534	4 105	2 997	2 989	
	162	66	548	4 085	3 104	2 979	
Bac. mycoides	90	207	253	48	66	35	47
	90	211	265	48	66	38	43

Таблица 4

Сравнительные данные развития отдельных культур бактерий в чисто минеральной питательной среде, хранившейся в сосудах без растений

(Число бактерий в тысячах в 1 мл среды)

Название бактерий	Исходное число бактерий при заражении	Изменение числа бактериальных клеток в контрольном растворе после заражения					
		через 7 дней	через 15 дней	через 23 дня	через 31 день	через 39 дней	через 47 дней
Pseudomonas aurantiaca	155	5 134	68 120	155 800	165 060	239 520	155 520
	177	5 146	68 940	152 880	165 000	236 600	155 840
Rhizobium leguminosarum	490	3 033	83 352	179 550			
	496	3 049	86 124	174 230			
Azotobact. chroococcum	4,4	170	296	1 130	1 362	393	149
	4,4	173	296	1 094	1 359	396	151
Bac. megatherium	62	1 163	253	422			
	64	1 170	266	427			
Bac. cereus	248	184	187	293	156	230	140
	231	209	196	295	157	232	143
Bac. mycoides	106	128	46	57	224	25	60
	108	110	48	61	226	27	56

гороха и в 2,9 тыс. раз в ризосферном растворе кукурузы. В указанных растворах обоих растений через 39 дней после заражения интенсивность возрастания клеток псевдомонаса начинает падать. Если с 31 по 39-й день культуры в ризосферном растворе гороха отношение количества бактерий к исходному их содержанию снижается незначительно, то в ризосферном растворе кукурузы оно приближается к показателям интенсивности нарастания бактериальных клеток в контрольном растворе. Снижение нарастания численности бактериальных клеток в ризосферных растворах происходит, повидимому, вследствие исчерпания запасов пластических и активирующих рост бактерий веществ (в том числе и витаминов).

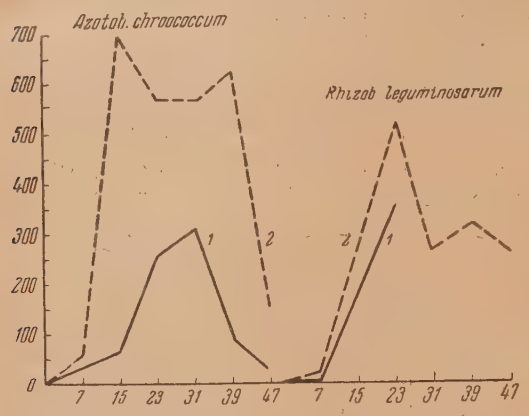


Рис. 1. Интенсивность нарастания Az. chroococcum и Rhiz. leguminosarum в ризосферном растворе кукурузы на смеси Гельригеля. *1* — контроль, *2* — кукуруза

В ризосферном растворе кукурузы азотобактер и клубеньковые бактерии также дают (хотя слабее, чем псевдомонас) больший темп нарастания, чем на контрольном растворе (рис. 1).

При этом азотобактер в своем развитии дает слабо выраженную двувершинную кривую нарастания культуры: через 15 и 32 дня после заражения. В развитии клубеньковых бактерий максимум нарастания культуры наблюдается только через 23 дня. После резкого снижения через 39 дней вновь наступает некоторый подъем в нарастании этих бактерий.

Образование двувершинной кривой нарастания азотобактера в ризосферном растворе кукурузы, очевидно, обусловлено тем, что накопленная в течение 31 дня бактериальная биомасса после автолиза может служить дополнительным источником питания и энергии для развития клеток последующих генераций. После 39 дней наблюдается резкий спад кривой нарастания азотобактера, что следует объяснить полным исчерпанием запаса питательных веществ в культурах. На чисто минеральном растворе азотобактер развивается с одним значительно меньшим, чем в опыте, максимумом нарастания клеток через 31 день культуры. Что касается клубеньковых бактерий, то они вовсе исчезают после 23 дней культуры в контроле.

Скорость развития спороносных бактерий в ризосферных растворах этих же растений в зависимости от видового их различия в десятки, сотни и даже тысячи раз уступает скорости развития неспороносных бактерий (рис. 2). Среди бациллярных форм относительно лучшее развитие дает Bac. megatherium с максимумом нарастания числа развивающихся клеток в ризосферном растворе гороха через 15 дней, а в ризосферном растворе кукурузы через 31 день культуры. Наоборот, максимум нарастания числа клеток Bac. cereus наступает раньше в ризосферном растворе кукурузы (через 23 дня), чем в ризосферном растворе гороха (через 31 день). В ризосферных растворах обоих растений клетки Bac. mycoides развиваются несколько лучше, чем в контрольном растворе, только в первой половине опыта. При этом в зависимости от вида растения они дают различный (как по срокам, так и по интенсивности) максимум нарастания. В дальнейшем кривая нарастания затухает.

При сопоставлении кривых нарастания числа спороносных бактерий в ризосферных растворах в зависимости от вида растения можно заклю-

чить, что клетки Bac. megatherium и Bac. cereus (в течение 15 дней культуры) размножаются более интенсивно под влиянием корневых выделений гороха, чем корневых выделений кукурузы. В остальное время опыта в нарастании числа этих бактерий наблюдается обратная картина: наибольший темп нарастания они дают под влиянием корневых выделений кукурузы, а не гороха. Что касается Bac. mycoides, то он развивается очень слабо в ризосферных растворах обоих растений по сравнению с двумя другими испытанными бациллами. Несколько лучше он развивается в присутствии корневых выделений кукурузы. В этом слу-

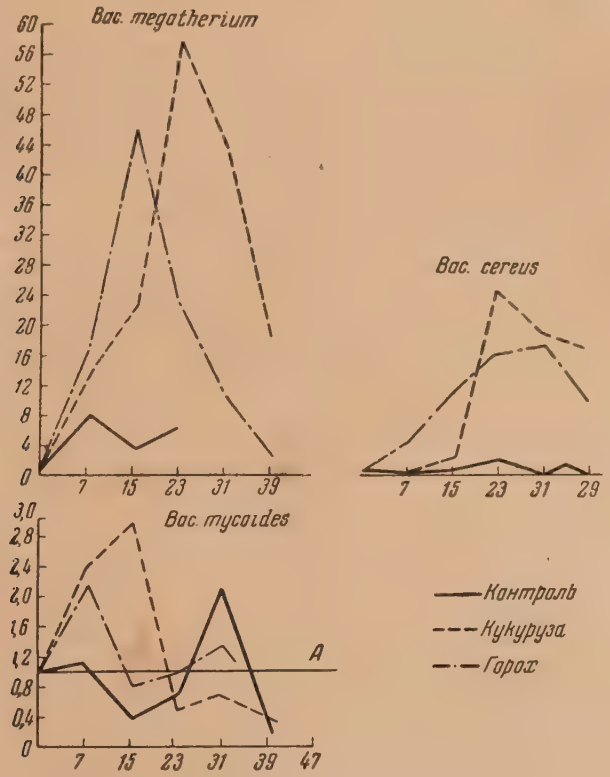


Рис. 2. Интенсивность нарастания спороносных бактерий в ризосферных растворах гороха, кукурузы и на смеси Гельригеля. Линия *A* показывает исходное содержание бактерий

чае количество клеток данного микроба превышает исходное их содержание в 2,3 раза через 7 дней и в 2,9 раза через 15 дней. В дальнейшем содержание клеток Bac. mycoides резко снижается, спускаясь ниже исходного количества. В ризосферном растворе гороха количество клеток Bac. mycoides через 7 дней превышает исходное содержание всего в 2,2 раза и к концу опыта снижается по сравнению с начальным в 2 раза.

Очень слабое развитие испытуемых гетеротрофных бактерий на чисто минеральной смеси Гельригеля происходит, повидимому, за счет использования ими небольших органических примесей, внесенных при посеве. Не исключена возможность использования бактериями углерода углекислоты воздуха, на что указывают многие авторы.

Так, например, по данным Аристовской [1], Staph. aureus, Bact. fluorescens, Bact. pyocyaneum, Az. agile, Az. chroococcum, Bact. Rabinowitch, Bact. smegmae и актиномицеты для нормального своего развития

нуждались в CO_2. В исследованиях Бариновой [2] углекислота воздуха ускоряла рост Asp. niger, Asp. flawus и Rh. nigricans на минеральных средах с внесением янтарной, яблочной, аспарагиновой и лимонной кислот.

Выводы

Опыты по сравнительному изучению влияния на почвенные бактерии корневых выделений гороха и кукурузы с учетом сухого веса растений показали:

1. При культуре бактерий в пробирках с ризосферным раствором корневые выделения гороха более благоприятно влияют на развитие Pseudomonas, чем корневые выделения кукурузы; Az. chroococcum по сравнению с Rhizobium leguminosarum несколько лучше развивается в присутствии корневых выделений кукурузы.

2. В ризосферных растворах гороха и кукурузы спорообразующие бактерии развиваются во много раз слабее, чем неспоровые формы. Из спороносных бактерий относительно лучше развивается Bac. megatherium и хуже Bac. mycoides. Среднее положение занимает Bac. cereus.

3. Bac. megatherium и Bac. cereus лучше развиваются в ризосферном растворе гороха в течение первой половины опыта. В остальное время они лучше развиваются в ризосферном растворе кукурузы. Bac. mycoides очень слабо развивается в ризосферных растворах обоих растений. Несколько лучше он развивается в ризосферном растворе кукурузы, чем гороха.

Почвенный институт
Академии наук СССР
Москва

Получено 20.1.1954 г.

ЛИТЕРАТУРА

1. Аристовская Т. В. Использование CO_2 и возможность редукции карбоксила гетеротрофами. Микробиология, X, 701, 1941.
2. Баринова С. А. К вопросу о значении углекислоты для жизнедеятельности плесневых грибов. Микробиология, XXII, 497, 1953.
3. Красильников Н. А. Влияние корневых выделений на развитие азотобактера и других почвенных микробов. Микробиология, III, 343, 1934.
4. Мешков Н. В. Влияние корневых выделений гороха и кукурузы на развитие азотобактера и некоторых других почвенных микробов. Микробиология, XIX, 109, 1950.
5. Мешков Н. В. Вещества, активирующие рост микроорганизмов в корневых выделениях растений. Журн. общей биологии, XIII, стр. 76, 1952.
6. Мешков Н. В. Корневые выделения высшего растения. Тр. Всес. конференции по вопросам почвенной микробиологии, стр. 285, 1953.

НАБЛЮДЕНИЯ ЗА СКОРОСТЬЮ РАЗМНОЖЕНИЯ МИКРООРГАНИЗМОВ В МОРСКИХ ВОДОЕМАХ

А. Е. Крисс и *Е. М. Маркианович*

Как уже указывалось (Крисс и Рукина [9]), в литературе не было никаких сведений о скорости размножения микроорганизмов в морских водоемах. Попытки воспроизвести в лабораторной обстановке условия моря (Н. Буткевич и В. Буткевич [1]) или использовать метод изолированных проб воды (Ворошилова и Дианова [2]) столь далеки от действительности в естественной обстановке местообитаний морских микроорганизмов, что полученные данные о скорости воспроизведения бактериальной биомассы вряд ли могут быть оценены даже в первом приближении.

Убедившись в своих исследованиях морских и океанических глубин, что вся водная толща буквально заполнена взвешенными частицами неорганической и органической природы, микроскопических и макроскопических размеров, создающими огромные поверхности раздела, где происходит аккумуляция и трансформация органического вещества в формы, доступные микроорганизмам, и где, следовательно, возникают условия, благоприятные для размножения микроорганизмов, мы (Крисс и Рукина [9]) решили использовать это явление для разработки метода, позволяющего выяснить скорость размножения микроорганизмов в морских водоемах.

В качестве аналога поверхностей раздела: взвешенные частицы — вода были использованы грани твердой и жидкой фазы, создающиеся при погружении стеклянных пластинок в море или океан. Для этой цели хороши предметные стекла, укрепляемые при помощи резиновых пробок или других держателей на тросе, что дает возможность опустить их на любую глубину. Стекла должны быть тщательно обработаны для полного удаления с их поверхностей органического вещества; кроме того, перед самым спуском в морские глубины мы их основательно прожигали в пламени паяльной лампы.

Как известно, уже очень скоро после погружения стеклянных пластинок или других предметов в водоемы к ним прикрепляются микроорганизмы, бóльшая или меньшая часть которых начинает размножаться. После известной экспозиции стекол в воде на них под микроскопом видны делящиеся клетки и микроколонии, состоящие из нескольких бактерий или даже нескольких десятков микробных клеток. Подсчитав число особей в каждой микроколонии и принимая, что последняя образуется из одной клетки, можно, если знать прошедший отрезок времени, определить прирост биомассы микроорганизмов в единицу времени. В этом и состоит принцип метода, предложенного нами для выяснения скорости размножения микроорганизмов в морях и океанах.

Впервые этот метод был применен в Тихом океане (Крисс и Рукина [9]). Стекла были опущены на разные глубины океана и выдерживались там 8 и 25 часов. Тогда обратило на себя внимание следующее обстоятельство. При восьмичасовой экспозиции стекол средняя продолжительность одной генерации (время, которое требуется для удвоения одной клетки) равнялась 2,0—3,4 часа, а при 25-часовой от 6,8 до 18,7 часа. Для

объяснения этого факта было сделано предположение, что размножение на стеклах какого-то числа микробных клеток наступает довольно быстро после их поселения, но рост отдельных микроколоний в силу ряда причин скоро прекращается даже на таких стадиях, когда они состоят лишь из нескольких клеток. Естественно, что наличие в большом проценте этих микроколоний, прекративших свое развитие в первые часы пребывания стекол в погруженном состоянии, скажется на результатах вычисления средней продолжительности генерации, если экспозиция стекол будет очень длительной.

С целью более детального изучения процесса размножения микроорганизмов на стеклах, погруженных в море, были проведены сравнительные исследования в прибрежных и открытых районах Черного моря, а также в Каспийском море. Опыты ставились в одной из бухт Черного моря, затем на небольшом удалении от берега (0,7 и 11 миль) в открытой части моря и на расстоянии нескольких десятков миль от береговой полосы в центральных районах Черного и Каспийского морей.

Методика

В бухте удалось провести систематические наблюдения в течение всего года. Ежемесячно, примерно в одни и те же числа, стекла опускались на горизонты 0; 10 и 14 м и вынимались через разные промежутки времени: 5; 10; 15 и 24 часа. Опыты были поставлены в июне, июле, августе, сентябре, ноябре, декабре 1952 г. и январе, марте, апреле и мае 1953 г.

В открытой части Черного моря на расстоянии 0,7 и 11 миль от берега (в мае 1953 г.) стекла подвешивались на 24 часа по горизонтам: 0; 10; 15; 25; 50; 100; 150; 200; 250 м. В центральном районе Черного моря на расстоянии 50 миль от ближайшего мыса стекла находились (декабрь 1952 г.) на горизонтах 0 и 10 м — 5; 10; 15 и 24 часа, а на остальных глубинах — 15; 25; 50; 75; 100; 150; 250; 350; 550; 750; 950; 1250; 1450 м — 24 часа.

В Каспийском море на станции в средней части Каспия в 52 милях от ближайшего берега стекла были опущены (август 1953 г.) на глубины 0; 10; 25; 50; 75; 100; 150; 200; 300; 500; 600; и 700 м и выдерживались на этих горизонтах 12; 18 и 24 часа. К сожалению, из-за поднявшегося в конце суточной станции шторма не удалось извлечь все стекла.

Стекла, извлеченные из воды после окончания опытов, высушивались, фиксировались над пламенем горелки и затем окрашивались 1%-ным эритрозином в 5%-ной карболовой кислоте в течение 24 часов. Микроскопия производилась на стороне стекол, которая не обжигалась пламенем горелки. Под микроскопом (ув. 1350х) просматривалось поле за полем зрения площадь в 8 см^2, с отступом от краев и места соприкосновения стекла с держателем на тросе. При микроскопии сосчитывалось число одиночно лежащих микробных клеток по каждой морфологической группе в отдельности. Это давало возможность установить не только морфологическое разнообразие осевших на стеклах микроорганизмов, но и определить численность различающихся по морфологии микробных форм. Одновременно на указанной площади стекла велся подсчет числа микроколоний и числа бактериальных клеток, составлявших каждую микроколонию.

Для удобства определения средней скорости размножения микроорганизмов все микроколонии, выросшие на стеклах, были распределены на группы в зависимости от числа составлявших их клеток: одиночно лежащая делящаяся клетка, микроколонии из 3—5, 5—10, 10—25, 25—50, 50—75, 75—100 клеток и микроколонии свыше 100 клеток, в которых число клеток условно принималось за 100.

Суточный ход изменений численности микроорганизмов, поселившихся на стеклах

В силу тех обстоятельств, что исследование изменений численности микроорганизмов в течение суток не могло быть произведено на одном и том же стекле и эти изменения определялись путем сопоставлений данных микроскопии ряда стекол, погруженных на указанные выше отрезки времени, неизбежны были колебания, вызванные всякими побочными причинами, которые подчас трудно учесть при проведении такого рода опытов в море. Мы не можем, например, объяснить, почему в бухте средняя по всем горизонтам (различия между горизонтами в мелководной бухте были очень малы) численность микроорганизмов, прикрепившихся к стеклам, в некоторых сериях опытов не только не увеличивалась при удлинении сроков экспозиции стекол, но даже заметно уменьшалась (рис. 1).

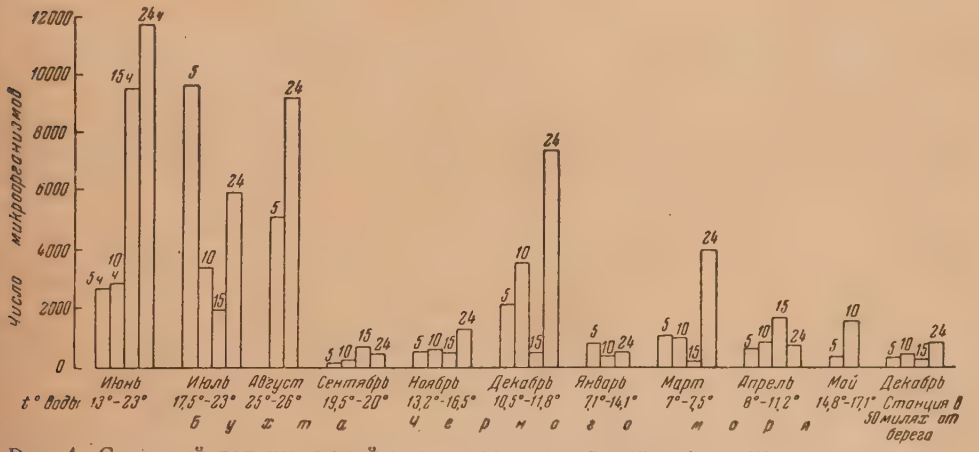


Рис. 1. Суточный ход изменений численности микроорганизмов на стеклах, погруженных в море в разные месяцы года (средние данные по горизонтам 0, 10, 14 м)

Однако по рис. 1, где изображены графически изменения общего числа микроорганизмов на стеклах в течение суток в разные месяцы года, можно заключить о некоторых общих закономерностях процесса прикрепления и размножения микроорганизмов на погруженных в море предметах в начальный период их пребывания в воде. Становится очевидным, что этот процесс протекает неравномерно, отнюдь не пропорционально времени, однако от последнего несомненно зависит численность микробного населения на стеклах. За небольшими исключениями, при 24-часовой экспозиции стекол количество микробных клеток было выше, чем на стеклах, выдержанных в бухте меньшие сроки. Выяснилось также, что температура воды не является определяющим фактором для поселения и размножения микроорганизмов на погруженных предметах. В декабре, когда температура воды равнялась 11°, количество микроорганизмов на стеклах мало отличалось от августа с температурой воды в день опыта в 25°. В марте температура упала до 7° — между тем количество микроорганизмов было значительно больше, чем в сентябре с температурой воды в 20°.

Оказалось далее, что в разные месяцы года число микроорганизмов на стеклах подвержено значительным колебаниям. На рис. 1 видно, что в июне, июле, августе и декабре общее число микроорганизмов наибольшее по сравнению с другими месяцами. Здесь возможна связь с сезонными явлениями в развитии фитопланктона.

Массовая гибель планктонных водорослей после «цветения» несомненно вызывает возрастание концентрации органического вещества.

Вполне вероятно, что от концентрации органического вещества в воде в формах его, доступных для микроорганизмов, зависит численность микробного населения на стеклах, которые адсорбируют это вещество и этим самым создают первичный пищевой фон для поселения и размножения микробных клеток.

Уже через несколько часов пребывания стекол в море количество микроорганизмов на них определяется не только поселяющимися клетками, но и размножающимися. Рис. 2 графически воспроизводит суточные изменения в различные месяцы числа тех бактерий, которые составляли микроколонии на стеклах и, следовательно, появились лишь в

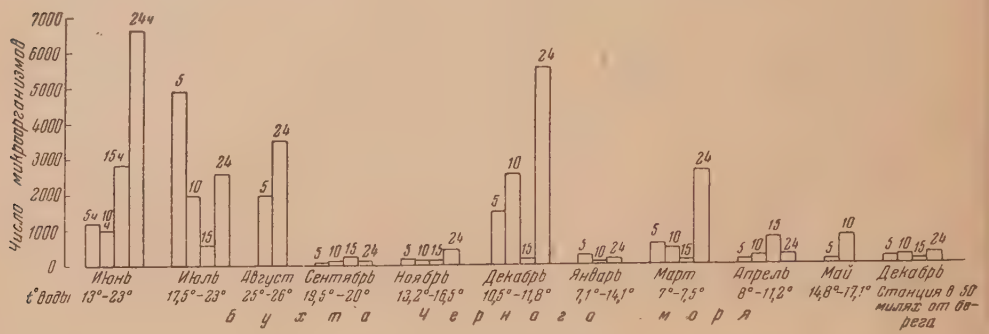


Рис. 2. Суточная динамика числа микробных клеток, возникших в результате размножения, на стеклах в разные месяцы наблюдений (средние данные по горизонтам 0, 10, 14 м)

результате размножения поселившихся бактериальных особей. Легко видеть, что этот рисунок почти копирует, но в уменьшенных размерах рис. 1: та же неравномерность в нарастании биомассы бактерий в течение суток, но в большинстве случаев заметное увеличение числа клеток к 24 часам пребывания стекол в воде. Также отсутствует всякая связь между температурой воды и величиной бактериальной биомассы, возникающей за счет размножения осевших на стеклах бактерий,— обстоятельство, указывающее на то, что температурный фактор сам по себе не обладает определяющим влиянием на процессы воспроизведения «перифитонных» микроорганизмов. Резкие различия между отдельными месяцами свидетельствуют о том, что в морской воде имеются иные, мощные факторы, от которых зависит бактериальная продукция на стеклах. Очевидно, это пищевые ресурсы среды в виде усвояемых форм органического вещества; концентрация их может значительно колебаться в зависимости от берегового стока и динамики жизненных явлений в море.

Образование на стеклах бактериальных микроколоний и изменение их количественного состава в течение суток

Свободноплавающие в воде микроорганизмы обычно представлены одиночными особями. Об этом легко судить по характеру расположения микробных клеток на мембранных ультрафильтрах, через которые были профильтрованы пробы воды с различных глубин моря. Зооглейные формы встречаются сравнительно редко, но иногда в препарате можно наблюдать частицы детрита со скоплениями на них бактерий, явно связанных общностью происхождения. Естественно, что нельзя исключить возможность прикрепления к стеклам, помимо одиночных бактерий, также и кусочков детрита с образовавшимися на них микроколониями. Однако число последних очень мало по сравнению с одиночными клетками микроорганизмов.

Рис. 3. Суточная динамика числа микроколоний и соотношений мелких и крупных микроколоний на стеклах в разные месяцы наблюдений (средние данные по горизонтам 0, 10, 14 м.)

1 — колонии из двух; *2* — из трех; *3* — из пяти; *4* — 10—25; *5* — свыше 25 клеток

В проведенных исследованиях нас интересовал не только суточный ход изменений в общем числе микроколоний, но и динамика соотношения между микроколониями различного количественного состава. Как уже указывалось, при микроскопии стекол проводилась группировка микроколоний по количеству составлявших их клеток. На рис. 3 графически показаны соотношения между микроколониями из 2, 3—5, 5—10, 10—25 клеток и от 25 и выше 100 клеток в виде отрезков соответствующей длины внутри столбов, которые выражают общее число микроколоний на стеклах в разные часы суток, в разные месяцы наблюдений, в бухте Черного моря, а также на станции в 50 милях от берега.

Несмотря на колебания, подчас значительные, вызванные сложностью условий проведения опытов в море, заметно нарастание числа микроколоний к 24 часам пребывания стекол в воде. В разные месяцы меняется общая численность микроколоний и степень изменения их количества с удлинением экспозиции, но эти явления не связаны с температурой воды.

Как правило, изменения общего числа микроколоний в течение суток обусловлены не только делящимися клетками, отдельно располагающимися на стеклах, но и более крупными микроколониями. Особенно это было выражено в июньской серии, когда к 24 часам пребывания стекол в воде заметно возросло число микроколоний из 5—10, 10—25 и свыше 25 клеток. И в другие месяцы, за исключением июля, произошло увеличение количества микроколоний, состоящих из 5 клеток и больше, если сравнивать пятичасовую и суточную экспозицию стекол. Совершенно очевидно, что со временем все большее число клеток, поселившихся на стеклах, начинает размножаться, обуславливая нарастание количества микроколоний. Наряду с этим происходит рост образовавшихся микроколоний, о чем говорит повышение числа более крупных микроколоний.

Однако бросается в глаза то обстоятельство, что процессы образования и роста микроколоний не находятся в пропорциональной зависимости от времени. Хотя средние данные нивелируют различия, вызванные методическими погрешностями, видовыми особенностями микроорганизмов в отношении темпов размножения, а также неодинаковыми сроками пребывания микроорганизмов на стекле в течение данной экспозиции, вследствие того, что клетки, образующие микроколонии, поселяются на стекле не одновременно, а в разные отрезки времени, но все же можно заметить явную тенденцию к уменьшению интенсивности процесса оседания микробных клеток на стеклах и их размножения с увеличением экспозиции стекол. Чем больше находились стекла в погруженном состоянии, тем меньше в единицу времени поселялось микроорганизмов и нарастало их количество за счет размножения.

Мы произвели во всех сериях опытов, проведенных в бухте Черного моря, подсчеты числа осевших бактерий между 15 и 10 часами и между 24 и 15 часами. Количество осевших бактерий определялось путем суммирования одиночных клеток и числа микроколоний, так как каждая из микроколоний (основная масса) образовалась из одной осевшей клетки. Оказалось, что в среднем по всем сериям опытов в период между 15- и 10-часовой экспозициями стекол оседает 454 бактерии, а в период между 24- и 15-часовой экспозициями поселяется лишь 612 бактерий, хотя последний промежуток времени почти вдвое больше первого.

Вычисления прироста бактериальных клеток только за счет размножения показали, что в среднем по всем опытам увеличение числа размножившихся бактерий между 10 и 5 часами произошло в 1,23 раза, между 15 и 10 часами в 1,12 раза и между 24 и 15 часами в 1,23 раза. Таким образом, происходит замедление не только в процессе оседания, но и в размножении микроорганизмов в последний, довольно значительный отрезок времени суточной экспозиции стекол. Повидимому, данное явле-

ние определяется адсорбционной емкостью стекол в отношении органического вещества из воды. Эта емкость насыщается быстро, уже в первые часы пребывания стекол в погруженном состоянии и тогда же заканчивается качественное преобразование адсорбированного органического вещества в формы, доступные для усвоения микроорганизмами.

Естественно, что запасы пищи, возникающие таким образом на стеклах и создающие условия для поселения и размножения микроорганизмов, казалось бы равные во всех случаях, вследствие однокачественности поверхностей раздела: предметное стекло — вода, на самом деле будут зависеть в значительной мере от концентрации в воде доступных для микроорганизмов форм органического вещества. Процессы трансформации адсорбированного на стеклах органического вещества из стойких в нестойкие для микроорганизмов формы не в состоянии обеспечить на стекле такую концентрацию усвояемого органического вещества, какая создается в случае непосредственной адсорбции его из воды, когда содержание в ней легко доступных форм органического вещества сравнительно велико. В пользу этого предположения говорят приведенные выше данные о резком увеличении количества поселившихся бактерий, образовавшихся микроколоний и числа более крупных колоний тогда, когда в море возрастает концентрация усвояемого органического вещества.

Скорость размножения микроорганизмов в море

Математические расчеты, основанные на анализе указанных выше наблюдений над оседанием и размножением микроорганизмов на стеклах, привели Иерусалимского [5] к изменению формулы вычисления среднесуточного коэффициента P/B (Зенкевич [3, 4], Крисс и Рукина [6]). Среднее отношение продукции бактерий к их биомассе по истечении суток

$$P/B = \frac{4 \sum \lg m \cdot n}{Nt} \times 24,$$

где m — среднее число клеток в каждой группе микроколоний, n — число микроколоний каждой группы, t — время пребывания стекла в море, N — сумма микроколоний и одиночных клеток.

Таблица 1

Среднесуточное отношение продукции бактерий к их биомассе (P/B) в бухте и центральной части Черного моря

Экспозиция стекол в часах	Суточный коэффициент P/B										
	июнь	июль	август	сентябрь	ноябрь	декабрь бухта	декабрь открытое море	январь	март	апрель	май
5	1,2	1,4	1,2	0,2	0,5	2,4	1,2	1,0	2,4	0,7	1,0
10	0,5	1,0		0,2	0,2	2,4	0,5	0,5	0,7	0,2	1,2
15	0,2	0,2		0,2	0,2	0,2	0,2		1,0	0,7	
24	0,5	0,2	0,2	0,2	0,2	0,7	0,2	0,2	0,7	0,2	

В табл. 1 приведены данные о среднесуточном коэффициенте P/B, вычисленном для бухты и открытой части Черного моря. Расчеты суточного коэффициента были сделаны для каждого месяца на основе опреде-

лений после 5, 10, 15 и 24-часовой экспозиции стекол. Из таблицы видно, что значения суточного P/B меняются в зависимости от того, какой продолжительности была данная серия наблюдений. Наибольшие величины получены при пятичасовой экспозиции стекол. За небольшими исключениями в отдельные месяцы суточный коэффициент P/B равнялся или превышал единицу. Вычисления, произведенные на основании данных 10-часового и большего пребывания стекол в воде, дали значения суточного коэффициента P/B в большинстве случаев меньше единицы. При 24-часовой экспозиции стекол отношение продукции к биомассе равнялось 0,2—0,7.

Аналогичные данные об уменьшении величины среднесуточного коэффициента P/B при увеличении экспозиции стекол были получены и в исследованиях на Каспийском море и в Тихом океане. Становится очевидным, что различная скорость размножения микроорганизмов на стеклах в течение суточных наблюдений существенно влияет на результаты вычислений суточного коэффициента P/B. Это важное обстоятельство должно быть учтено в сравнительных исследованиях бактериальной продуктивности морей. Необходимо производить определения среднесуточного коэффициента P/B, выдерживая стекла в воде 24 часа, а в случае невозможности — пользоваться меньшими экспозициями, не превышающими 10—12 часов, лишь для сравнительной оценки интенсивности процесса размножения микроорганизмов в море. Колебания в величине P/B в разные месяцы наблюдений (табл. 1) особенно заметны при короткой экспозиции стекол и нивелируются при большой продолжительности опыта. Привлекают внимание явные различия в величинах P/B в одном и том же месяце — декабре, но в различных участках моря — в бухте и на расстоянии 50 миль от берега в поверхностном (0—10 м) слое воды.

Таблица 2

Среднесуточное отношение продукции бактерий к их биомассе (P/B) на разных глубинах морей

(Экспозиция стекол 24 часа)

Глубина в м	Черное море			Каспийское море	Тихий океан	
	0,7 миль май 1953 г.	11 миль май 1953 г.	50 миль декабрь 1952 г.	станция 1 август 1953 г.	станция 3 июль 1951 г.	станция 4 июль 1951 г.
0	0,1	0,2	0,2			
10	0,1	0,01	0,2			
15	0,07	0,2	0,3			
25	0,1	0,2	0,3	0,5		
50	0,1	0,2	0,2			0,7
75			0,2			0,2
100	0,05	0,1	0,02	0,3		1,0
150	0,1	0,1	0,1	0,3		
200	0,01	0,03				0,2
250		0,1	0,1		1,0	
300						1,2
350			0,03			
475						0,5
500				0,5	2,0	
550			0,05			
600				0,2		
700				0,3		
750			0,09		0,2	
950			0,08			
1250			0,05			
1450			0,1			

В табл. 2 помещены среднесуточные коэффициенты P/B, вычисленные для разных глубин Черного и Каспийского морей и Тихого океана. Для Тихого океана сделаны пересчеты по измененной формуле Иерусалимского [5], что привело к уменьшению величин коэффициента P/B против ранее опубликованных (Крисс и Рукина [9]).

Из этой таблицы, где сравниваются результаты наблюдений после 24-часовой экспозиции стекол, видно, что среднесуточные значения коэффициента P/B колеблются на разных горизонтах и в разных морских водоемах. На больших глубинах, за небольшими исключениями, наблюдается заметное снижение темпов воспроизведения микробной биомассы. В Тихом океане и Каспийском море прирост биомассы бактерий за сутки выше, чем в Черном море.

В самом же Черном море месячные изменения в величине среднесуточного коэффициента P/B происходят не только в бухте, но и в открытой части моря. Характерно, что в 50 милях от берега среднесуточные коэффициенты P/B больше, чем в прибрежной части открытого моря: более высокая продуктивность декабря по сравнению с маем перекрыла влияние прибрежной зоны.

Сопоставление данных в табл. 1 и 2 убеждает в том, что определяющим моментом является общая продуктивность моря, на которую влияет и от которой в свою очередь зависит бактериальная продуктивность. Эта общая продуктивность, неодинаковая в разных районах моря, колеблется в зависимости от ряда факторов, обуславливая динамику в концентрации легко усвояемого органического вещества в морской воде. Количественное содержание его в морской воде определяет не только численность микробного населения, но и скорость размножения микроорганизмов.

Величины суточной бактериальной продукции в воде морских водоемов

Совершенно очевидно, что то небольшое количество определений среднесуточного коэффициента P/B, которое было сделано в Черном, Каспийском морях и Тихом океане, недостаточно для суждения о суточной бактериальной продуктивности этих морей, которая, как мы видели выше, значительно колеблется в зависимости от района моря и сезонных явлений биологического характера. Поэтому средние цифры, приведенные в табл. 3, могут рассматриваться лишь в первом приближении, характеризуя собой порядок величин бактериальной продукции в море за сутки, а отнюдь не в их абсолютном значении, особенно в отношении различий между морями.

Таблица 3

Суточная бактериальная продукция в воде морских водоемов

Водоемы	Биомасса в мг/м³	Среднесуточный коэффициент P/B	Величина суточного прироста микробной биомассы в мг/м³	Отношение суточной продукции бактерий к их биомассе в %
Черное море кислородная зона: бухта		0,34		
Черное море кислородная зона: открытое море	20	0,13	2,6	13
Каспийское море	20,8	0,35	7,3	35
Тихий океан	0,1	0,8	0,08	80

В кислородной зоне Черного моря на открытых пространствах биомасса бактерий за сутки увеличивается в результате размножения в сред-

нем на 13% (табл. 3). Суточный прирост бактериальных клеток в весовом значении, если исходить из средней биомассы в 20 мг/м³ (Крисс и Лебедева [8]; Крисс [6]), составляет 2,6 мг/м³. В Каспийском море биомасса возрастает в течение суток на 35%, т. е. в 1 м³ воды биомасса бактерий в 20,8 мг (Крисс, Бирюзова и Рукина [7]) продуцирует 7,3 мг бактериальных клеток. Наиболее высокий среднесуточный коэффициент P/B был получен для Тихого океана: среднее отношение суточной продукции бактерий к их биомассе равнялось 80%. Таким образом, в момент исследований размножение микроорганизмов в океане происходило столь интенсивно, что микробная биомасса почти удваивалась за сутки. Еще раз следует здесь указать, что эти цифры из-за малого числа наблюдений не могут охарактеризовать среднесуточную бактериальную продуктивность всего моря, а позволяют лишь оценить возможные пределы колебаний в суточной продукции микробных клеток в морском водоеме.

Выводы

Взвешенные частицы органического и неорганического происхождения, концентрация которых в морях и океанах значительна, создают поверхности раздела, где происходит аккумуляция органического вещества из воды и трансформация его в формы, доступные для усвоения микроорганизмами. Последние, как это легко видеть на стеклах, если их опустить в морские глубины и выдержать там различные сроки, поселяются на поверхностях раздела и размножаются там за счет адсорбированного и трансформированного на границах фаз органического вещества.

Количество поселившихся микроорганизмов и образуемых ими микроколоний за данный отрезок времени на одинаковой площади стекла так же, как и скорость размножения клеток, испытывают большие колебания в разные месяцы. Это не связано с температурой воды и зависит, повидимому, от содержания усвояемого органического вещества, которое определяется близостью суши, течениями и сезонными явлениями биологического характера. Очевидно, что процессы трансформации адсорбированного на стеклах органического вещества из стойких в доступные для микроорганизмов формы не в состоянии обеспечить такую концентрацию на стекле усвояемого органического вещества, какая создается в случае непосредственной адсорбции его из воды, когда содержание в ней легко доступных микроорганизмам форм органического вещества сравнительно велико.

Процесс заселения стеклянных пластинок микроорганизмами протекает в течение суточных наблюдений неравномерно. По мере увеличения продолжительности пребывания стекол в море количество осевших бактерий нарастает, однако интенсивность этого явления заметно ослабевает к концу суток. Размножение поселившихся бактерий также происходит непропорционально времени. Хотя количество микробных клеток, возникших в результате размножения, увеличивается к 24 часам, но число нарождающихся микроорганизмов в различные часы суток неодинаково: оно больше в первые часы и уменьшается в последние часы суточной экспозиции стекол. Аналогичная картина наблюдается в отношении темпов прироста числа микроколоний и изменений соотношений между мелкими и крупными микроколониями. Эти темпы выше в начальный период выдерживания стекол в воде, чем в конце суточных наблюдений. Причины, повидимому, лежат в адсорбционной емкости стекол в отношении органического вещества, которая насыщается уже в первые часы выдерживания стекол в воде; тогда же заканчивается качественное преобразование адсорбированного органического вещества в формы, доступные для усвоения микроорганизмами.

Необходимо для вычисления среднесуточного коэффициента P/B, т. е. среднесуточного отношения продукции бактерий к их биомассе,

пользоваться лишь данными суточных наблюдений над скоростью размножения микроорганизмов. Исследования в открытой части Черного и Каспийского морей и Тихого океана показали, что за сутки прирост микробной биомассы колеблется в пределах от 13 до 80%, составляя 0,08—7,3 мг/м³ воды.

Институт микробиологии
Академии наук СССР
и
Севастопольская биологическая станция
Академии наук СССР

Получено 24.IV.1954 г.

ЛИТЕРАТУРА

1. Буткевич Н. и Буткевич В. Размножение морских бактерий в зависимости от состава среды и температуры. Микробиология, V, 322, 1936.
2. Ворошилова А. и Дианова Е. Роль планктона в размножении бактерий в изолированных пробах морской воды. Микробиология, VI, 741, 1937.
3. Зенкевич Л. Материалы по питанию рыб Баренцова моря. Докл. 1-й сессии Гос. океан. ин-та. 4, 1, 1931.
4. Зенкевич Л. Фауна и биологическая продуктивность моря. 1951.
5. Иерусалимский Н. Вычисление скорости роста водных микроорганизмов на стеклах обрастания. Микробиология, XXIII, 561, 1954.
6. Крисс А. Роль микроорганизмов в биологической продуктивности Черного моря. Усп. совр. биол., 38, 1 (4), 1954.
7. Крисс А., Бирюзова В. и Рукина Е. Распределение микроорганизмов в водной толще Среднего и Южного Каспия и их минерализующая деятельность. ДАН СССР, 97, 329, 1954.
8. Крисс А. и Лебедева М. Вертикальное распределение численности и биомассы микроорганизмов в глубоководных областях Черного моря. ДАН СССР, 89, 949, 1953.
9. Крисс А. и Рукина Е. Биомасса микроорганизмов и скорость их размножения в океанических глубинах. Журн. общей биол., 13, 346, 1952.

ВЫЧИСЛЕНИЕ СКОРОСТИ РОСТА ВОДНЫХ МИКРООРГАНИЗМОВ НА СТЕКЛАХ ОБРАСТАНИЯ

Н. Д. Иерусалимский

Для измерения скорости размножения бактерий в водоемах, (а вместе с тем коэффициентов их продуктивности) Крисс и Рукина [1] предложили метод, который состоит в том, что на выдержанных в воде стеклах сосчитывается общее количество выросших колоний и численность бактериальных клеток в каждой из них. Приняв, что каждая колония образовалась из одной клетки, и учтя время пребывания стекол в водоеме, можно вычислить и скорость размножения бактерий. В соответствующих расчетах, сделанных Криссом при консультации автора настоящих строк, для упрощения было принято, что все бактериальные клетки, давшие колонии, осели на стекло сразу же после его погружения. Это допущение давало несколько заниженную величину коэффициентов размножения. С другой стороны, находящиеся на стекле единичные клетки при вычислениях не учитывались, благодаря чему найденные коэффициенты отражали среднюю скорость размножения не всей микрофлоры, осевшей на стекло, а лишь той ее части, которая за время выдерживания стекол успела начать размножаться.

В связи со сказанным возникла потребность найти такие приемы вычисления, которые позволили бы более точно определять среднюю скорость размножения всего бактериального населения водоемов. Попытка вывести необходимые для этого формулы сделана в настоящей работе.

Прежде всего необходимо отметить, что для характеристики скорости размножения микробов исследователи обычно пользуются продолжительностью генерации, т. е. тем периодом времени, в течение которого биомасса культуры (число клеток) удваивается. Удельная скорость (интенсивность) роста вычисляется значительно реже, хотя этот последний показатель обладает несомненными преимуществами. Как известно, под удельной скоростью роста подразумевается прирост единицы биомассы за единицу времени, т. е., другими словами, тот самый коэффициент продуктивности, который в данном случае нас интересует. Между тем непосредственно по продолжительности генерации о нем судить нельзя. Тот факт, что за время одной генерации биомасса удваивается (т. е. возрастает на 100%), вовсе еще не значит, что продуктивность микробов за этот период составляет 100% к исходной биомассе. Дело в том, что вновь появившиеся клетки не инертны — они в свою очередь растут, давая дополнительное приращение биомассы микробной культуры.

Поясним только что сказанное примерами. Допустим, что общая биомасса (численность) микробных клеток по прошествии одного часа возросла в два раза. Вычисления показывают, что из полученного при этом прироста на долю исходной микробной популяции приходится только 0,693, а остальные 0,307 прироста происходят за счет размножения клеток, появившихся на свет уже во время опыта.

В случае, если число микробов увеличивается в четыре раза (т. е. возрастает на 300%), на долю исходной популяции придется еще меньше — только 0,463 общего прироста (139% по отношению к исходной биомассе). Остальные же 0,537 прироста (161% к исходной биомассе) являются результатом жизнедеятельности новообразовавшихся клеток.

Коэффициент прироста самой исходной биомассы за единицу вре-

мени — это и есть тот показатель, который называют интенсивностью (удельной скоростью) роста. Показатель этот (C) вычисляется по следующей общеизвестной формуле, вывод который мы опускаем:

$$C = 2{,}3 \cdot \frac{\lg m - \lg m_0}{t}. \qquad (1)$$

Здесь t — время, m — величина биомассы в конце периода времени t и m_0 — исходная биомасса.

Если исходная величина биомассы $m_0 = 1$, то формула (1) соответствующим образом упрощается:

$$C = 2{,}3 \frac{\lg m}{t}. \qquad (2)$$

Приведенная формула позволяет без особого труда вычислить коэффициент роста микробной колонии, если эта колония развилась из одной клетки, а продолжительность периода ее роста известна. Сложнее обстоит дело со стеклами обрастания, так как здесь невозможно установить, когда именно осела на стекло та или иная клетка — родоначальница данной колонии. Необходимо, кроме того, иметь в виду, что скорость размножения отдельных бактерий сильно различается; значительная часть из них в течение срока наблюдения и вовсе не приступает к размножению — то ли по причине нежизнеспособности, то ли потому, что на поверхности стекол им недостает каких-то условий питания. Отличить не способные к размножению клетки от клеток, только что осевших на стекло и не успевших поэтому приступить к размножению, не представляется возможным.

Однако упомянутые выше трудности можно преодолеть, если не гнаться за определением скорости роста отдельных колоний, а ограничить свою задачу вычислением среднего коэффициента размножения всех осевших бактерий, и притом в тех именно условиях, которые имеют место на поверхности стекла.

Формула для расчета средней скорости роста бактерий на поверхности стекол обрастания

При выведении указанной формулы необходимо исходить из допущения, что видовой состав оседающих на стекло микробов в течение опыта не изменяется. В связи с этим вероятность оседания бактерий, обладающих той или иной определенной скоростью размножения, остается все время одинаковой. Разумеется, на отдельно взятых стеклах неизбежны всякого рода случайные отклонения, но чем больше будет сделано определений, тем более будут нивелироваться эти отклонения и тем более четко проявится вышеуказанная закономерность.

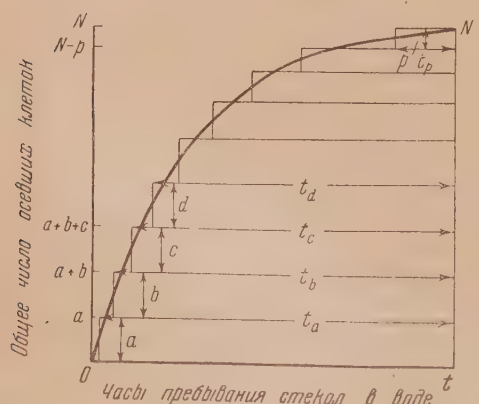


Рис. 1. Схематическая кривая оседания бактерий на стекла обрастания

На рис. 1 дана схматическая кривая оседания бактерий на поверхность стекла.

Разобьем мысленно общее число осевших клеток (N), в зависимости от моментов их оседания, на соответствующие группы. Пусть в первую группу войдет a клеток, во вторую b клеток, в третью c, в последнюю — p:

$$N = a + b + c \ldots + p. \qquad (3)$$

Разбивку на группы следует делать таким образом, чтобы моменты оседания у клеток одной группы различались возможно меньше. Однако полного совпадения этих моментов все же не будет, а поэтому будет несколько различаться и продолжительность времени, в течение которого клетки одной группы в дальнейшем размножаются. В связи с этим для клеток каждой группы придется брать некоторую среднюю про-

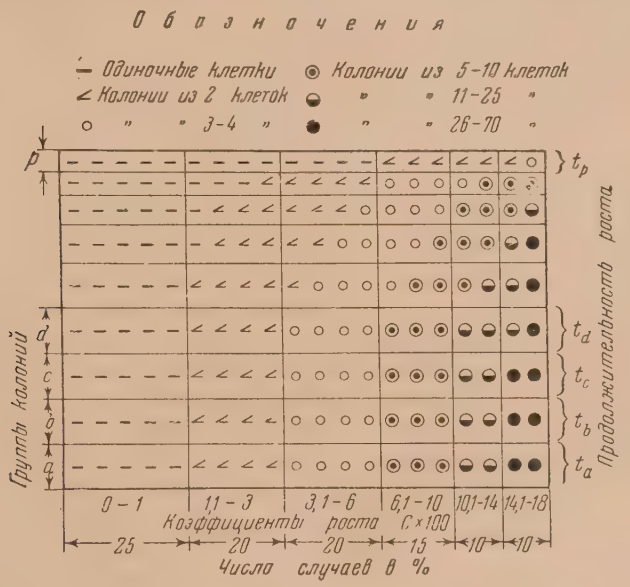


Рис. 2. Зависимость величины колоний от коэффициентов роста и продолжительности периода роста (схема)

должительность периода размножения (рис. 1). Пусть, например, для первой группы — t_b, для третьей группы — t_c и т. д. Для последней группы это время равно t_p.

Как уже было принято вначале, коэффициенты размножения во всех группах клеток совпадают: во всех них имеется одинаковый процент неразмножающихся клеток и одинаковые проценты клеток, обладающих теми или иными конкретными коэффициентами роста. Однако колонии, развившиеся из клеток с одинаковым коэффициентом роста, в разных группах будут иметь неодинаковые размеры, так как периоды их роста не совпадают: наиболее крупные колонии успеют образоваться у бактерий первой группы, наименьшие — у бактерий последней группы. Сказанное схематически показано на рис. 2.

Остановимся сначала на первой группе. В момент оседания на стекло она состояла из a клеток. В дальнейшем, по прошествии t_a часов, из них образовалось a колоний (включая сюда и «колонии», состоящие из одной клетки). Численность клеток в этих колониях может быть различной, в зависимости от коэффициентов роста клеток — родоначальниц колоний.

Пусть первая клетка данной группы, обладающая коэффициентом роста C_1, дала через период времени t_a колонию из m_1 клеток. Вторая клетка, коэффициент роста которой равен C_2, дала за тот же период колонию, состоящую из m_2 клеток. Коэффициент роста третьей клетки равен C_3, а колония ее состоит из m_3 клеток и т. д. Колония последней клетки, имеющей коэффициент роста C_a, содержит m_a клеток.

Коэффициент (удельная скорость) роста каждой колонии вычисляется по уравнению (2). Из этого же уравнения, путем соответствующих преобразований, можно найти зависимость числа клеток в колонии от скорости и продолжительности ее роста:

$$2{,}3 \cdot \lg m = Ct. \tag{4}$$

Применим формулу (4) к каждой колонии, входящей в интересующую нас группу, а затем все полученные уравнения суммируем:

$$\begin{array}{l} C_1 t_a = 2{,}3 \lg m_1 \\ + \quad C_2 t_a = 2{,}3 \lg m_2 \\ \qquad \cdots\cdots\cdots \\ \hline C_a t_a = 2{,}3 \lg m_a \\ (C_1 + C_2 + \ldots + C_a) t_a = 2{,}3 (\lg m_1 + \lg m_2 + \ldots + \lg m_a) \end{array}. \tag{5}$$

Преобразуем теперь следующим образом левую половину уравнения (5):

$$(C_1 + C_2 + \ldots + C_a) t_a = \frac{(C_1 + C_2 + \ldots + C_a)}{a} \cdot a t_a. \tag{6}$$

Сумма всех коэффициентов роста $(C_1 + C_2 + \ldots + C_a)$, поделенная на их общее число (a), есть не что иное, как средний коэффициент роста для клеток первой группы (C_{cp}):

$$\frac{(C_1 + C_2 + \ldots + C_a)}{a} = C_{cp}. \tag{7}$$

Следовательно, $(C_1 + C_2 + \ldots + C_a) t_a = C_{cp} \cdot a t_a$. (7а)

После соответствующей подстановки уравнение (5) получит следующий вид:

$$C_{cp}\, a t_a = 2{,}3 (\lg m_1 + \lg m_2 + \ldots + \lg m_a). \tag{8}$$

Перейдем теперь ко второй группе колоний, образовавшихся из осевших на стекло b клеток. Согласно нашей исходной предпосылке, удельные скорости (коэффициенты) роста этих клеток не отличаются от коэффициентов роста клеток первой группы. Следовательно, совпадают в обеих группах и средние величины этих коэффициентов (C_{cp}). Но период роста у второй группы (t_b) был иным, а поэтому и колонии второй группы содержат какие-то иные количества клеток, начиная от m_{a+1} и до m_{a+b}.

Обработаем указанным выше способом данные для второй группы бактерий. В результате получим:

$$C_{cp}\, b t_b = 2{,}3 (\lg m_{a+1} + \lg m_{a+2} + \ldots + \lg m_{a+b}). \tag{9}$$

Подобные же вычисления произведем и для всех остальных групп бактерий, кончая последней группой (p). Период размножения этой группы равен t_p, а колонии ее содержат $m_{(N-p)+1}$ $m_{(N-p)+2}$ и т. д., до $m_{(N-p)} + p = m_N$ клеток включительно.

Полученные в результате всего этого выражения сложим почленно:

$$\begin{array}{l} C_{cp} a t_a = 2{,}3 (\lg m_1 + \lg m_2 + \ldots + \lg m_a) \\ C_{cp} b t_b = 2{,}3 (\lg m_{a+1} + \lg m_{a+2} + \ldots + \lg m_{a+b}) \\ \cdots\cdots\cdots\cdots\cdots\cdots\cdots\cdots \\ \hline C_{cp}\, p t_p = 2{,}3 (\lg m_{N-p+1} + \lg m_{N-p+2} + \ldots + \lg m_N) \\ C_{cp} (a t_a + \ldots + p t_p) = 2{,}3 (\lg m_1 + \ldots + \lg m_N) \end{array}. \tag{10}$$

Отсюда находим среднюю скорость роста бактерий за все время опыта:

$$C_{ср} = \frac{2{,}3(\lg m_1 + \ldots + \lg m_N)}{at_a + bt_b + \ldots + pt_p} = \frac{2{,}3 \Sigma \lg m}{at_a + bt_b + \ldots + pt_p}. \quad (11)$$

Вычислить верхнюю часть правой половины уравнения (11) нетрудно, так как численность клеток во всех колониях нам известна. Но как вычислить выражение, стоящее в знаменателе $(at_a + bt_b \ldots + pt_p)$?

Обратившись к рис. 1, мы заметим, что первый член этого выражения at_a равен площади прямоугольника с основанием t_a и высотой a. Второй член bt_b равен площади прямоугольника, основание которого t_b и высота $-b$. Подобным же образом и остальные члены равны площадям соответствующих прямоугольников. Что касается многочлена $(at_a + bt_b + \ldots + pt_p)$ в целом, то он выражает собой сумму площадей всех упомянутых прямоугольников. Эта сумма площадей равна площади фигуры *ONT*, очерченной сверху кривой оседания бактерий, снизу — осью абсцисс t (т. е. временем пребывания стекол в воде) и справа — осью ординат N (т. е. общим числом клеток, осевших на протяжении всего опыта или, что то же самое, общим числом колоний в конце опыта). Измерить непосредственно площадь такой криволинейной фигуры довольно сложно. Этого легче можно достигнуть, построив равновеликий ей прямоугольник, высота которого равнялась бы общему числу осевших клеток N, а основание — среднему времени пребывания всех этих клеток на поверхности стекла (t_x). Сказанное схематически показано на рис. 3. О том, что фигура *BFNO* равновелика прямоугольнику *KHNO*, можно заключить по равенству заштрихованных площадей *BFK* и *FHN*, из коих первая отсечена от интересующей нас фигуры, а вторая к ней добавлена. Среднее время t_x, очевидно, составляет какую-то часть времени t, в течение которого стекло находилось в водоеме:

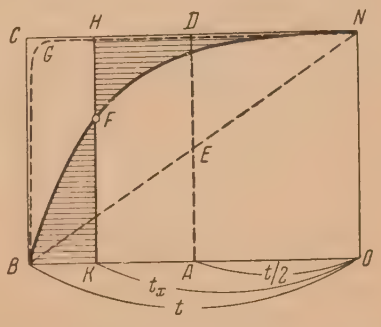


Рис. 3. Замена площади, очерченной кривой оседания и осями координат, равновеликим ей прямоугольником

$$t_x = At. \quad (12)$$

В этом уравнении под A подразумевается некоторая поправка, меньшая единицы.

Теперь выражение, стоящее в знаменателе уравнения (11), можно будет преобразовать следующим образом:

$$at_a + bt_b + \ldots + pt_p = Nt_x = NAt. \quad (13)$$

После подстановки полученного выражения (13) в уравнение (11) последнее примет следующий простой вид:

$$C_{ср} = \frac{2{,}3 \sum \lg m}{NAt}. \quad (14)$$

В этом уравнении известны все величины ($\lg m$, N, t) необходимые для вычисления средней скорости $C_{ср}$, за исключением поправки A. Посмотрим, как можно найти указанную поправку.

Если бы все бактерии осели на стекло сразу после его погружения, то кривая оседания почти совпала бы с левой и верхней осями координат

(рис. 3, фигура *BGN*). В этом случае площадь интересующей нас фигуры *BGNO* была бы приблизительно равна площади прямоугольника *BCNO*, образуемого осями координат, и, следовательно, среднее время t_x почти не отличалось бы от общего времени пребывания стекол в воде (t).

В случае, если бы клетки в течение всего опыта оседали равномерно, их накопление на поверхности стекла изобразилось бы наклонной прямой линией *BEN* (рис. 3). В данном случае фигуру *BENO* (представляющую собой прямоугольный треугольник) можно заменить равновеликим ей прямоугольником *ADNO*. Как видно из рис. 3, искомое среднее время равняется здесь половине срока пребывания стекла в водоеме:

$$AO = \frac{BO}{2} = \frac{t}{2}. \qquad (15)$$

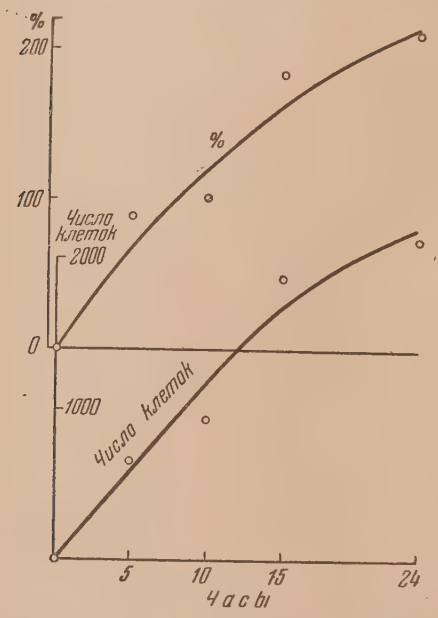


Рис. 4. Кривая оседания бактерий на стекле по фактическим данным А. Е. Крисса

В действительности кривая оседания *BFN* занимает какое-то промежуточное положение между первым и вторым случаем. Значит, в действительности среднее время t_x меньше всего срока пребывания стекол в водоеме, но больше половины этого срока:

$$t > t_x > \frac{t}{2}. \qquad (16)$$

На рис. 3 искомое среднее время t_x обозначено линией *HK*. В данном примере оно составляет 0,80 от всего времени пребывание стекла в водоеме (t), и, следовательно, поправка $A = 0{,}80$.

Однако в действительности кривая оседания бактерий изгибается столь сильно, как это показано на рис. 3, лишь при очень длительном выдерживании стекол в водоеме. Но при выдерживании не дольше суток эта кривая идет более полого, приближаясь к прямой наклонной линии. Из анализа сообщенных нам А. Е. Криссом фактических данных (см. ниже таблицу и рис. 4) вытекает, что в случае погружения стекол в водоем на 5—24 часа величина поправки A варьирует в пределах 0,56—0,61, в среднем же составляет 0,58. После подстановки этой последней величины в уравнение (14) мы получим следующую формулу, пригодную для вычисления скорости размножения бактерий в течение вышеупомянутых сроков:

$$C_{ср} = \frac{2{,}3 \sum \lg m}{0{,}58 \cdot Nt} = \frac{4 \cdot \sum \lg m}{Nt}. \qquad (17)$$

Необходимо еще раз напомнить, что в приведенной формуле под N подразумевается число всех колоний, включая сюда и «колонии», состоящие из одной клетки, $\lg m$ которых равен нулю ($\lg 1 = 0$).

Другие показатели размножения бактерий на стеклах обрастания

Выведенное выше уравнение (17) позволяет установить среднюю интенсивность роста бактерий в течение того или иного срока их пребывания на поверхности стекол, погруженных в водоем. Но для более точ-

ного сопоставления продуктивности микробов в различных местах водоемов (или в одном и том же месте, но в различное время) одной средней скорости роста может оказаться недостаточно. В связи с этим остановимся на других показателях размножения микробов.

Попавшие на поверхность стекла микробы размножаются за счет питательных веществ, адсорбированных стеклом из окружающей воды. Однако концентрация веществ, пригодных для питания того или иного вида микробов, обычно очень невысока. Запас их на стекле быстро исчерпывается, в связи с чем размножение бактерий сначала замедляется, а потом и вовсе прекращается. Поэтому для сравнительной оценки пищевых ресурсов различных водоемов важно проследить, как скоро прекратится размножение бактерий на стеклах, погруженных в эти водоемы. Косвенно об этом можно судить по тому, что по мере удлинения срока наблюдения средний коэффициент размножения бактерий раньше или позже начинает снижаться. Но для более точного суждения необходимо вычислить величину коэффициента роста в интервалах между двумя последовательными наблюдениями. Это делается при помощи следующего уравнения, которое нетрудно вывести из уравнений (1) и (4):

$$C_{(1-2)} = \frac{C_2 t_2 - C_1 t_1}{t_2 - t_1}. \qquad (18)$$

Здесь под C_1 подразумевается коэффициент роста, вычисленный за период времени от нуля до t_1 часов, под C_2 — коэффициент роста за более длительный период времени t_2, а под $C_{(1-2)}$ интересующий нас коэффициент роста в период между t_1 и t_2 часами.

Если, например, при пятичасовом выдерживании стекол средний коэффициент роста равнялся C_5, а по данным 10-часового наблюдения он оказался равным C_{10}, то средний коэффициент роста между 5 и 10 часами определяется так:

$$C_{(5-10)} = \frac{C_{10} \cdot 10 - C_5 \cdot 5}{10 - 5} = 2C_{10} - C_5. \qquad (19)$$

Значительная часть осевших на стекло бактерий в течение срока наблюдения не приступает к размножению и не образует колоний. Некоторые из этих бактерий, повидимому, полностью лишены жизнеспособности. Но несомненно также, что другие бактерии не размножаются только из-за того, что не находят на поверхности стекол необходимых им условий питания. Чем ниже в водоеме концентрация усвояемых питательных веществ и чем больше в нем находится бактерий, не приспособленных к данным условиям существования (например, гетеротрофов, требующих высокого содержания органических веществ), тем выше, очевидно, будет число неразмножающихся клеток на поверхности стекол обрастания. Поэтому для сравнительной оценки водоемов представляется интересным учесть соотношение между размножающимися и неразмножающимися микробными клетками. Если обозначить число одиночных клеток через O, а число колоний из 2 клеток и более через K, то относительное количество способных размножаться клеток выразится следующим уравнением:

$$B = \frac{K \cdot 100}{K + O}. \qquad (20)$$

Величина B указывает численность осевших на стекло бактерий, способных при данных условиях размножаться, в процентах к общему числу осевших бактерий. Показатель B можно бы назвать «коэффициентом прорастания» или «процентом всхожести» бактерий. Чем больше среди осевших на стекло микробов имеется типичных аборигенов данного водоема и чем более содержится в воде питательных веществ, тем выше будет упомянутый коэффициент прорастания.

Необходимо подчеркнуть, что в число одиночных клеток могут попасть не только формы, не способные к размножению, но и жизнеспособные бактерии, которые не начали размножаться лишь из-за краткости срока их пребывания на стеклах. Обозначив такие бактерии через n и внеся соответствующую поправку в уравнение (20), мы получим следующее уравнение, которое более правильно выражает относительное число (процент) клеток, способных размножаться.

$$B = \frac{(K+n)\cdot 100}{(K+n)+(O-n)} = \frac{(K+n)\cdot 100}{K+O}. \qquad (21)$$

Однако пользоваться этим последним уравнением довольно затруднительно, так как определить число n мы не в состоянии. Поэтому на практике этим числом приходится пренебрегать, довольствуясь приближенным уравнением (20).

В связи с этим необходимо заметить, что число n бывает относительно большим при коротких сроках наблюдения. При более длительном выдерживании стекол входящие в это число клетки успеют уже образовать колонии. Сказанное наглядно видно по схематическому рис. 2: в группе клеток p, срок размножения которых t_p был наименьшим, одиночные клетки составляют 65%, а колонии — 35%. В группе a, размножавшейся в течение более длительного срока t_a, число одиночных клеток сократилось до 25%.

Правда, и при более длительной выдержке на стекло будут садиться все новые клетки, не успевшие пока приступить к размножению. Однако по мере возрастания общего числа колоний (см. K в уравнении (21) будет понижаться и процент ошибки, связанной с недоучетом упомянутых клеток (n), способных размножаться, но не успевших еще дать колонии.

Отсюда следует, что для более точного определения коэффициентов прорастания (B) при помощи уравнения (20) необходимо прибегать к возможно длительному выдерживанию стекол в водоеме. И во всяком случае при сравнении коэффициентов прорастания у микробного населения различных водоемов и в различные периоды времени можно пользоваться только стеклами, погружавшимися в воду на одинаковые сроки.

Для более всестороннего сопоставления свойств микроорганизмов, обитающих в различных водах, наряду со средними коэффициентами роста важно также установить присущую им максимальную скорость роста. Максимальные коэффициенты роста выявляются путем соответствующей обработки данных для наиболее крупных колоний.

Из задач, разрешение которых связано с методом стекол обрастания, исследователя может также интересовать вопрос о закономерностях оседания бактерий на поверхность погруженных в воду стекол. Знание этих закономерностей необходимо для вычисления упоминавшейся выше поправки А (см. уравнения (14) и (17).

Скорость оседания микробов зависит как от их концентрации в окружающей воде, так и от адсорбционных свойств данного стекла. Эти адсорбционные свойства определяются химическим составом стекла, способом обработки его поверхности, а возможно также и физико-химическими условиями в окружающей воде. Поэтому следует добиваться возможно большей однотипности применяемых стекол. Несмотря на это, не исключена возможность, что из-за разнокачественности стекол появятся «провалы»: при более длительной выдержке число осевших бактерий окажется меньшим, чем при более короткой. Впрочем, от метода стекол обрастания и нельзя требовать, чтобы он охарактеризовывал концентрацию бактерий в водоеме: для этих последних целей существуют методы прямого счета.

При статистической обработке достаточно большого числа наблюдений можно составить правильное представление о закономерностях оседания

бактерий на поверхность стекол обрастания. Для этого необходимо иметь данные для стекол, погруженных одновременно в одну и ту же точку водоема, но выдержанных там в течение различных сроков. На каждом из стекол сосчитывается суммарное количество колоний и одиночных клеток, почему-либо не образовавших колоний ($K+O$). Это суммарное количество «точек роста» равно числу осевших на стекло бактериальных клеток. Указанные определения повторяются и с другими сериями стекол, также погружавшихся одновременно, но на различное время. Получив много подобных цифр, вычисляют среднее число «точек роста» для каждой экспозиции. В опытах Криса экспозиции были равны 5, 10, 15 и 24 часам. Чем больше будет проведено опытов, тем меньше скажутся упомянутые выше случайные провалы.

Недостатком этого способа вычисления является то, что численность бактерий, оседающих на стекла в разных опытах, может сильно различаться, благодаря чему серии стекол с меньшим числом бактерий слабее отразятся на средних величинах, чем серии более густо заселенных стекол. Чтобы этого избежать, численность «точек роста» при какой-нибудь одной экспозиции (например, при 10-часовой) принимается за 100%, а количество «точек роста» при остальных экспозициях в каждой серии выражается соответствующими процентами. Из полученных таким образом процентов выводится среднее.

Ход оседания бактерий на стекла обрастания

№ опыта	Количество „точек роста" на стеклах, погруженных на разные сроки				Соотношения между „точками роста" в %			
	5 час.	10 час.	15 час.	24 часа	5 час.	10 час.	15 час.	24 часа
1	1612	1932	7160	6172	83	100	371	319
2	—	1679	1554	3951	—	100	94	234
3	50	142	498	389	35	100	351	274
4	518	520	440	998	99	100	85	191
5	833	1482	417	2515	56	100	28	170
6	688	301	—	473	228	100	—	157
7	739	785	—	1948	94	100	—	248
8	509	711	1151	590	72	100	162	83
9	290	837	—	—	35	100	—	—
Среднее	655	932	1870	2130	88	100	182	210

Примеры вычислений, сделанных тем и другим способом по данным Криса и Маркианович [12], приведены выше в таблице. Построенные на основании этого кривые оседания имеют слегка затухающий характер (см. рис. 4, составленный по данным таблицы).

Выводы

Предложенный А. Е. Криссом метод определения скорости размножения микроорганизмов в водоемах дает возможность вычислять среднюю удельную скорость роста бактерий, осевших из водоема на поверхность стекол, и проследить, как изменяется эта скорость за время пребывания бактерий на стеклах. Необходимые для расчетов формулы выведены в настоящей работе.

Кроме того, указанный метод позволяет выяснить соотношение между неспособными к размножению и размножающимися бактериями, а также присущую им при данных условиях максимальную скорость роста. При

достаточно большом числе наблюдений могут быть установлены закономерности оседания бактерий из водоема на поверхность стекла. Необходимые для всех этих целей способы вычисления приведены в тексте данной статьи.

Институт микробиологии
Академии наук СССР
Москва

Получено 17.V.1954 г.

ЛИТЕРАТУРА

1. Крисс А. Е. и Рукина Е. А. Биомасса микроорганизмов и скорость их размножения в океанических глубинах. Журн. общей биол., XIII, № 5, 346, 1952.
2. Крисс А. Е. и Маркианович Е. Наблюдения над скоростью размножения микроорганизмов в морских водоемах. Микробиология, XXIII, вып. 5, 1954.

ЧИСЛЕННОСТЬ И БИОМАССА БАКТЕРИЙ В ВОДНОЙ ТОЛЩЕ СЕВЕРНОЙ ЧАСТИ КАСПИЙСКОГО МОРЯ

Л. К. Осницкая

Микроорганизмам принадлежит огромная роль в продуктивности водоемов. В связи с этими изучение количественного распространения микроорганизмов в водных бассейнах имеет не только теоретическое, но и практическое значение.

Проводившиеся ранее микробиологические исследования Каспийского моря касались главным образом изучения микрофлоры грунтов (Буткевич [1]; Малиянц [8]; Рейнфельд [11]; Осницкая [9]).

Лишь в нескольких работах имеются данные о микроорганизмах, населяющих водную толщу Каспийского моря. Из этих работ в первую очередь следует остановиться на исследованиях Буткевича, проведенных им в 1935 г. [1].

Буткевич провел учет количества бактерий методом прямого счета на мембранных фильтрах на восьми станциях по разрезу дельта р. Волги — селение Баутино (юго-восточная часть Северного Каспия). При этом оказалось, что если у селения Баутино содержится всего около 50 тыс. бактерий в 1 см³, то по мере приближения к дельте р. Волги число бактерий постепенно повышается до 200 тыс., а в 20 милях от устья происходит резкое увеличение числа бактерий, которое достигает здесь 1700 тыс. бактерий в 1 см³. У устья реки число бактерий снижается до 200—400 тыс. В самой дельте р. Волги число бактерий равнялось 25—60 тыс. в 1 см³. Образование больших скоплений бактерий у устья р. Волги Буткевич объясняет влиянием впадающей волжской воды и считает это явление общим для устьев рек, впадающих в море. Второй разрез с тремя станциями был сделан в направлении о-в Долгий — залив Кочак. Содержание бактерий в воде по этому разрезу выражалось величинами от 20 до 80 тыс. на 1 см³ и не подвергалось сильным колебаниям. В водах заливов Мертвого Култука и Кайдака (данные Дианової и Ворошиловой), сильно загрязненных органическими остатками, число бактерий колебалось в пределах 100—200 тыс. и лишь у о-ва Бирюч достигало 500 тыс. в 1 см³. На основании найденных величин по содержанию бактерий в воде Буткевич вычисляет биомассы бактерий для Каспийского моря, условно принимая вес 1 млрд. бактерий равным 0,5 мг. Величины биомассы колеблются от 50 до 250 мг в 1 м³, достигая в устье Волги 1 г на 1 м³. Сравнивая величины биомассы бактерий с биомассами водорослей (от 100 мг до 2 г в 1 м³), Буткевич делает вывод о том, что в Каспийском море бактерии играют в качестве пищевого звена почти такую же роль, как и планктонные водоросли, причем бактерии по сравнению с водорослями имеют более широкую зону распространения и бо́льшие возможности поэтому для участия в пищевом круговороте в море. Буткевич не ограничился только исследованием количественного содержания бактерий в воде, но и изучал их некоторые физиологические свойства.

Наиболее подробно были изучены Буткевичем выделенные из воды Каспийского моря денитрификаторы в отношении их морфологии, солеустойчивости, отношения к разным источникам углерода и т. д.

Евдокимов [3] при обследовании залива Кайдак обнаружил в образцах придонной воды различные физиологические группы бактерий: тионовокислые, восстанавливающие сульфаты и другие. Дианової и Ворошиловой, данные которых приводятся в работе Трофимова [12], на трех станциях в средней и южной частях Каспийского моря было найдено от 240 тыс. бактерий в 1 см³ в поверхностных слоях до 50—60 тыс. в 1 см³. Кусморская [7, 4], сопоставляя свои данные по распределению биомасс зоопланктона в Северном Каспии по разрезу дельта р. Волги — Мангистау с количествами микроорганизмов на том же разрезе, пришла к выводу, что между распределением зоопланктона и распределением микроорганизмов существует зависимость: максимальное количество бактерий (по счету колоний), 160 тыс. клеток, соответствовало максимуму биомассы зоопланктона — 55 мг на 1 м³; минимальное количество бактерий, 10 тыс. клеток, совпадало с минимумом биомассы зоопланктона — 10 мг на 1 м³.

Такая же зависимость между количеством бактерий и биомассой зоопланктона отмечена и для заливов Мертвый Култук и Кайдак.

Этими немногими работами, проведенными главным образом за период 1935—1938 гг., и исчерпываются исследования водной толщи Каспийского моря. За последние годы нам неизвестны работы по исследованию микрофлоры воды Каспия. Что же касается других наших морей, то известно, что в Черном море Криссом, Лебедевой и Рукиной [5] было найдено от 3 до 574 тыс. бактерий в 1 $см^3$; в Азовском море содержание бактерий колебалось, по данным Буткевича [1], около 130—350 тыс. в 1 $см^3$, а в глубоководных частях Охотского моря Крисс и Рукина [6] в зоне 0—10 м нашли максимальную концентрацию 6—7 тыс. бактерий только на станциях 1 и 14, а на большинстве станций концентрация равнялась десяткам бактерий в 1 $см^3$.

Каспийское море представляет собой очень интересный бассейн для микробиологического изучения, особенно мелководная, хорошо аэрируемая и мало засоленная часть Северного Каспия, где имеется колоссальный подток органических и минеральных веществ, приносимых водами рек Волги и Урала, т. е. имеются налицо условия, благоприятствующие развитию бактерий и осуществлению ими различных биохимических процессов, в результате которых в свою очередь может изменяться состав и режим Каспийского моря, а также его биологическая продуктивность.

Указанное свидетельствует о важности и необходимости проведения детального микробиологического изучения Каспийского моря, особенно в связи с возможным изменением режима Каспийского моря в результате зарегулирования стоков рек Волги и Урала.

В июле-августе 1951 г. и в июле-августе 1952 г. нами были проведены экспедиции в Северный Каспий, которые имели целью получить представление о количествах микроорганизмов, населяющих воды Северного Каспия, и выяснить основные факторы, влияющие на распределение микроорганизмов в воде Каспия.

Методика

Отобранные стерильно при помощи прибора Буткевича или несколько модифицированного прибора Францева пробы воды фильтровались через мембранные фильтры в объеме 2 $см^3$ (в тех случаях, когда вода была очень загрязненной, фильтровалось по 1 $см^3$). Обработка фильтров и подсчет микроорганизмов производились по методу Разумова [10], т. е. фильтры фиксировались в парах формалина, окрашивались карболовым эритрозином, просветлялись канадским бальзамом и просчитывались с иммерсией. Полученные данные по количественному распространению бактерий и биомассе их, вычисленной из расчета, что объем одной бактерии равен 0,3 μ^3 (согласно проведенным нами измерениям 400 клеток на фильтрах, полученных из разных районов Северного Каспия), удельный вес бактерии равен 1, а, следовательно, вес 1 млрд. бактерий равен 0,3 мг, представлены на рис. 1 для каждой станции охваченного экспедицией района Северного Каспия

На рис. 1 графически представлены численности и биомассы бактерий по станциям. Как видно из рис. 1, был обследован весь район Северного Каспия, причем обследован очень подробно, о чем свидетельствует как общее число сделанных станций, так и порядок их расположения. Всего было сделано 138 станций в районе моря и 5 станций в низовьях р. Волги. Такое количество станций позволяет нам считать полученные данные не случайными, вызванными какими-либо эпизодическими факторами, а достаточно закономерными.

Обсуждение результатов

Первое, что совершенно было очевидно после анализа полученного материала, это то, что при таких небольших глубинах — максимально от

10 до 11 м, а в среднем 3—6 м — и постоянных волнениях, в результате которых перемешивается водная толща до дна, нет разницы в количестве бактерий между глубинной и поверхностной пробами. Большей частью количество бактерий в поверхностной и глубинной пробах выражалось одним и тем же порядком цифр. Отклонения лежали в пределах погрешностей методики. Поэтому в дальнейшем обсуждении будут фигурировать только цифры, относящиеся к поверхностным пробам.

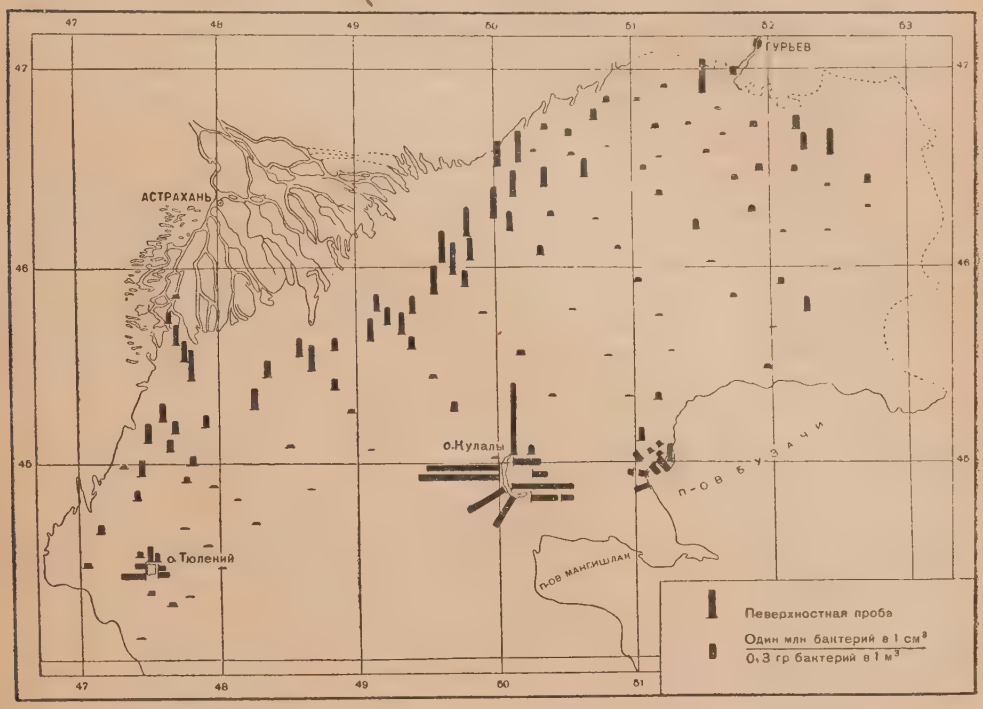


Рис. 1. Численность и биомасса микроорганизмов в воде Северного Каспия

Второе, что бросается в глаза при рассмотрении рис. 1, это колоссальные количества бактерий в мелководном районе Северного Каспия: количества бактерий, содержащихся в 1 см³, для большей части станций выражаются величинами в пределах 200 тыс.— 1500—2000 тыс., достигая 2500 тыс. на станциях 1815, 1823, 1832. Лишь для четырех станций количества бактерий выражались величинами, меньшими 200 тыс.

Переходим к обсуждению результатов по отдельным районам Северного Каспия. В образцах воды, взятой в разных местах у о-ва Тюлений, содержание бактерий колеблется от 559 тыс. на 1 см³ до 1819 тыс., причем незначительное удаление от суши — на 20—15-м не сказывается на количестве бактерий. Вдоль западного берега Северного Каспия, по направлению от о-ва Тюлений к дельте р. Волги, концентрация бактерий выражается величинами от 100 тыс. до 1500 тыс. в 1 см³, причем следует отметить, что имеется явно выраженное возрастание числа бактерий по мере приближения к дельте р. Волги: именно там цифры начинают достигать 1300 тыс.

Содержание бактерий в образцах воды, взятых в районе дельты р. Волги, сильно возрастает по сравнению с содержанием их в воде западного района и колеблется в основном около 2 млн. в 1 см³, лишь в единичных случаях спускаясь до 1000 тыс. (ст. 1811), а большей частью даже превышая 2 млн. вплоть до 2,5 млн. в 1 см³.

Таким образом, наши данные подтверждают высказанное Буткевичем предположение о влиянии стока р. Волги на бактериальное население

моря, а также находятся в согласии с полученными гидробиологами высокими величинами биомасс для фито- и зоопланктона именно в районе дельты р. Волги, где на стыке вод р. Волги и Каспия, по их выражению, образуется так называемый планктический фильтр из зоо- и фитопланктона, которые пышно развиваются, используя подток органических и биогенных элементов.

На восток от дельты р. Волги в районе Забурунья и далее имеется постепенное снижение концентрации бактерий до 200—1000 тыс. на 1 см³. Этот же порядок цифр сохраняется и в районе дельты р. Урал, где лишь на станции 1832 число бактерий достигает 2453 тыс. Вдоль восточного побережья Северного Каспия найденные бактериальные количества колебались в пределах 150—700 тыс. Только одиночные образцы дали высокую концентрацию бактерий — станция 1840—1918 тыс., станция 1837—1454 тыс. в 1 см³. Объяснение более низкой концентрации бактерий в восточной части Северного Каспия следует искать, по всей вероятности, не только в повышении по сравнению с другими районами солености (от 1—0,2‰ на западе до 6—8‰ на востоке), но в значительной степени и в более низкой концентрации органических веществ. Этим же, вероятно, объясняются необыкновенно высокие бактериальные количества в образцах воды, взятой в районе о-ва Кулалы, где соленость выражается примерно теми же цифрами. В этом районе у самого берега, где расположены массы гниющих водорослей — источник органического вещества, число бактерий в 1 см³ равняется 5—7 млн., при удалении от берега на 100 м число бактерий в 1 см³ образца снижается до 1,0—1,4 млн., а на расстоянии 500 м число бактерий равно 707 тыс. Интересно, что в пробах воды, взятой на о-ве Кулалы из высыхающего маленького озерка, отшнуровавшегося от моря и заполненного разлагающимися водорослями, где соленость, вероятно, превышала соленость восточного района, бактериальные количества были очень высоки — от 2,5 до 6,4 млн. В районе о-ва Долгого также на станциях, находящихся в 100—800 м от берега, количество бактерий было меньшим (300—400 тыс. в 1 см³), чем вблизи от берега, где оно достигало 1—2 млн.

Переходя к рассмотрению распределения бактериальных биомасс, можно соответственно сделать все замечания, которые были сделаны для общего количества бактерий.

Основное, что обращает на себя внимание,— это очень высокие величины биомасс для всего мелководного района Северного Каспия и особенно высокие для дельты р. Волги. Для большинства станций бактериальные биомассы выражаются в 0,1—0,3 г в 1 м³, а для района дельты р. Волги в 0,5—0,7 г в 1 м³, т. е. являются весьма внушительными величинами.

В то же время, по данным Усачева [13, 14], средняя биомасса фитопланктона равнялась в 1934 г. 1,2 г в 1 м³, в 1935 г.— 2 г в 1 м³, а в 1936 г.— 3 г в 1 м³.

В предустьевой зоне Северного Каспия биомасса фитопланктона достигала 100 г в 1 м³, а примерно в районе наших исследований биомасса фитопланктона в июне — августе 1936 г. равнялась 10 г в 1 м³.

Таким образом, биомасса бактерий, хотя и меньше биомассы фитопланктона, но все же достаточно значительна. А принимая во внимание большую подвижность бактерий, большую приспособленность их как к условиям обитания, так и к условиям питания, а также большую скорость размножения, ясно, что в обмене веществ в море по удельному значению бактерии не уступают фитопланктону. Что касается биомассы зоопланктона, то по данным Кусморской [7, 4] в мае-июне 1935 г. средняя биомасса зоопланктона равнялась 58 мг в 1 м³, в сентябре — 100 мг в 1 м³, в августе 1934 г.— 60 мг в 1 м³. Сравнивая биомассы зоопланктона с биомассами бактерий, можно сказать, что бактериальные биомассы не меньше биомасс зоопланктона. Иначе говоря, при учете биологической продуктивности Северного Каспия сле-

дует принимать во внимание не только биомассы фито- и зоопланктона, но и биомассу бактерий. Сравнивая средние количества бактерий в мелководной и глубинной частях Северного Каспия, можно отметить, что число бактерий в глубинной части значительно меньше, чем в мелководной. Так, в глубинной части для большинства станций количества микроорганизмов выражаются в среднем в 200—500 тыс. бактерий в 1 см³ и лишь в единичных случаях поднимаются до 1000 тыс., в то время как в мелководных районах большая часть образцов давала около 1000 тыс. в 1 см³, а во многих случаях число бактерий выражалось 2000 тыс. в 1 см³. Уменьшение числа бактерий по мере удаления от берега и углубления в море можно объяснить более благоприятными условиями для развития бактерий в мелководных районах, а именно: мелководные районы содержат большие концентрации органических и минеральных биогенных материалов за счет того, что в этих местах происходит наиболее обильное развитие фито- и зоопланктона, которые, разрушаясь, выделяют в среду продукты распада, используемые бактериями. Обильное развитие фито- и зоопланктона, а также микроорганизмов в прибрежном районе в свою очередь сильно уменьшает количество тех биогенных веществ, которые поступают в воды глубинной части Северного Каспия. Оказывает влияние также и большая осолоненность глубинной части: если в преддельтовых районах соленость выражается десятыми и сотыми промиль, то в глубинных частях соленость выражается в 5—8‰, а в юго-западной части достигает 10—11‰. Подобную же закономерность уменьшения биомассы фитопланктона по мере удаления от дельты р. Волги (главным образом) и р. Урала наблюдал Усачев, который считает, что наибольшие скопления фитопланктона приурочены к тем местам, где благодаря сливным течениям имеет место приток органогенных веществ.

По данным Кусморской, и распределение биомассы зоопланктона в Северном Каспии зависит от содержания в воде биогенных элементов, поступающих главным образом из рек. Поэтому в зоне стыка речных и морских вод, где происходит отложение взвешенных органических и неорганических веществ, а также разложение органических веществ, ранее отложившихся на дне, имеет место максимальное развитие зоопланктона, создающего вместе с пышно развивающимся фитопланктоном планктический фильтр, задерживающий проникновение биогенных элементов в зону морских вод, где в результате этого, а также увеличения концентрации соли происходит резкое снижение развития как фито-, так и зоопланктона. Это общее замечание, которое вытекает из рассмотрения рис. 1, подтверждается при более детальном анализе полученных данных по разрезам и отдельным районам, представленным на рисунках, к обсуждению которых мы перейдем.

На рис. 2, 3, 4 представлены данные по распределению бактерий по трем разрезам:

1) от свала Сетного осередка к Кулалинской банке,

2) от свала Хохлатского осередка к о-ву Кулалы и

3) от свала Жесткого осередка к Мангишлакскому заливу. Все эти разреза имеют направления от дельты р. Волги на юг — юго-восток в глубь моря. Как видно из рисунков, по мере удаления от дельты р. Волги имеет место уменьшение числа бактерий. По первому разрезу (рис. 2) число бактерий уменьшается от 835—665 тыс. в 1 см³ до 95—100 тыс. в 1 см³, т. е. в 8—7 раз. По разрезу от свала Хохлатского осередка к о-ву Кулалы (рис. 3) также происходит уменьшение числа бактерий от 980 тыс. в 1 см³ до 275—340 тыс. в 1 см³. Значительное снижение числа бактерий наблюдается по разрезу от свала Жесткого осередка к Мангишлакскому заливу (рис. 4), где число бактерий падает от 1250—1330 тыс. до 334—421 тыс. в 1 см³.

Соответственно численностям по всем разрезам имеет место уменьшение бактериальных биомасс по мере удаления от дельты р. Волги. Как

видно из рис. 1, подобная же картина наблюдается и по всем другим разрезам, на которых мы не останавливаемся, считая вполне достаточным разобрать три разреза с наибольшим числом станций и наиболее интересным расположением. Так как в экспедиции 1952 г. нам не удалось отобрать пробы на станциях, расположенных непосредственно в преддельтовом районе, то для того, чтобы получить наглядную картину резкого снижения числа бактерий по мере удаления от дельты, на рисунках приведены данные экспедиции 1951 г. по тем станциям, которые по расположению являются как бы непосредственным началом трех перечисленных разрезов. Принимая во внимание, что эти данные относятся к июлю 1951 г. и поэтому возможны незначительные отклонения в абсолютных цифрах, все же вполне очевидно, что максимальные количества бактерий наблюдаются именно в преддельтовом районе, где бактериальные количества достигают 2—2,5 млн. в 1 см³, а по мере углубления в море число бактерий резко снижается (более чем в 20 раз по каждому разрезу).

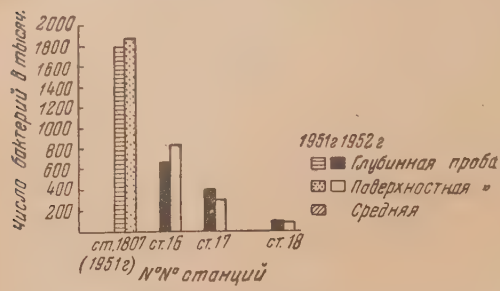


Рис. 2. Распределение бактерий в поверхностном и глубинном горизонтах воды Северного Каспия по разрезу от свала Сетного осередка к Кулалинской банке

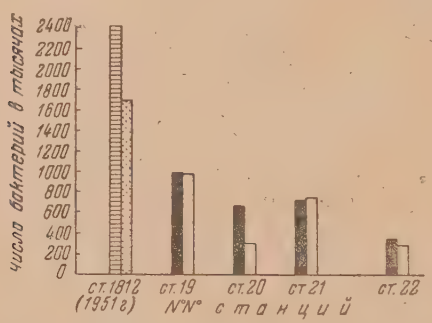


Рис. 3. Распределение бактерий в поверхностном и глубинном горизонтах Северного Каспия по разрезу от свала Хохлатского осередка к о-ву Кулалы

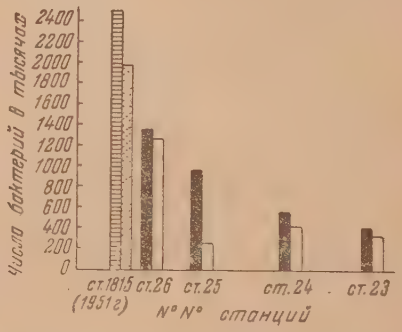


Рис. 4. Распределение бактерий в поверхностном и глубинном горизонтах воды Северного Каспия по разрезу от свала Жесткого осередка к Мангишлакскому заливу (эксп. 1952 г.)

Таким образом, наши данные по трем разрезам с большим числом станций полностью подтверждают данные Буткевича 1938 г. для разреза дельта р. Волги — Баутино, а также закономерности распределения бактерий, полученные Кусморской для разреза дельта р. Волги — Мангистау.

Что касается распределения бактерий в различных районах глубинной части Северного Каспия, то в Западной части Северного Каспия бактериальные количества колеблются в пределах 220—790 тыс. в 1 см³ на станциях, лежащих западнее бакинского тракта, находящихся в зоне западного течения р. Волги; более восточно лежащие станции, находящиеся уже в морской зоне, показывают очень малые бактериальные числа — порядка 60 тыс. в 1 см³. Если сравнить данные о бактериальном населении западной части Северного Каспия экспедиции 1952 г. с данными экспедиции 1951 г., станции которой были расположены в мелководной прибрежной части, то оказывается, что прибрежная часть несколь-

ко богаче населена микроорганизмами, чем глубинная. Из рис. 5, в котором приведены средние данные по численности бактерий в разных районах Северного Каспия, видно, что если в прибрежном районе западной части число микроорганизмов в 1 см³ в среднем 865—446 тыс. в 1 см³, то в глубинной части 274—292 тыс.

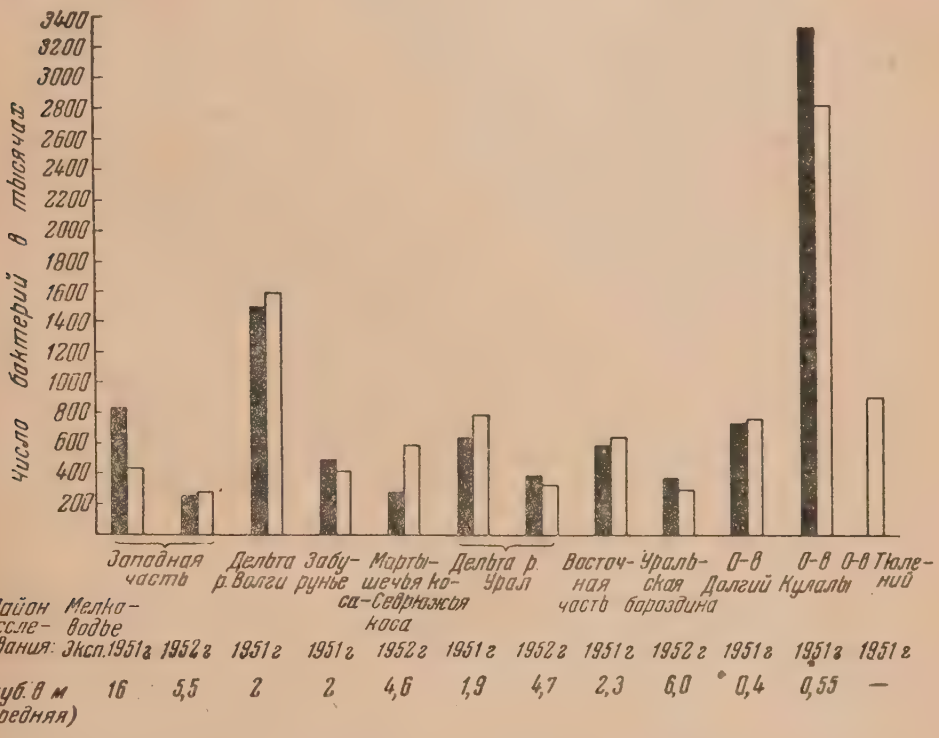


Рис. 5. Средние данные по распределению бактерий в поверхностном и глубинном горизонтах Северного Каспия (эксп. 1951—1952 гг.)

В районе Мартышечьей и Севрюжьей косы количество микроорганизмов находится в пределах 140—800 тыс. в 1 см³. Эти данные близки к данным по прибрежным станциям того же района (рис. 5, экспедиция 1951 г.). В районе дельты р. Урал на глубинных станциях обнаружено от 291 до 645 тыс. в 1 см³. Количество микроорганизмов на этих станциях близко к количеству микроорганизмов, найденному на прибрежных станциях того же района в экспедиции 1951 г. (рис. 5). В районе Уральской бороздины было отобрано 14 станций. Содержание микроорганизмов равнялось 210—756 тыс. в 1 см³. Исключением являлись станции, расположенные в самой южной части бороздины, на которых было обнаружено значительно меньше бактерий — около 150 тыс. в 1 см³. Во всяком случае можно отметить, что в водной толще Уральской бороздины содержатся весьма значительные количества микроорганизмов. Нас интересовал вопрос, каково содержание микроорганизмов в это время года в нижнем течении р. Волги и как оно изменяется по мере приближения к морю. Для выяснения этого вопроса было сделано пять станций, начиная от о-ва Искусственный вверх по главному руслу р. Волги, примерно через каждые 10 миль.

На рис. 6 представлены данные по этим станциям. Из рассмотрения этого рисунка очевидно, что содержание микроорганизмов в нижнем течении р. Волги сильно возрастает по мере приближения в дельте: так, в шести милях выше поселка Мумра число микроорганизмов равно 312 тыс. в 1 см³, в 10 милях ниже поселка уже 1104 тыс. в 1 см³, в 20 милях коли-

чество бактерий выражается в 1480 тыс. в 1 см³, а у о-ва Искусственный найдено 2287 тыс. в 1 см³ — порядок цифр типичный, как мы уже видели выше, для всего преддельтового района р. Волги. Иначе говоря, в преддельтовом районе, благодаря особенно благоприятным условиям для раз-

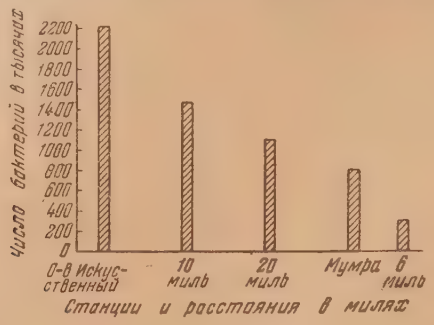


Рис. 6. Распределение бактерий в среднем горизонте воды в нижнем течении и в дельте р. Волги

вития микроорганизмов, как приносимых волжскими водами, так и аборигенов (подток органических и минеральных биогенных веществ, замедление течения и т. д.), происходит максимальное развитие микроорганизмов.

Выводы

На основании обработки материалов, собранных на 138 станциях мелководных и глубинных районов Северного Каспия, можно сказать следующее.

1. Количество бактерий в Северном Каспии находится в пределах от 100 –2500 тыс. клеток в 1 см³. Наиболее часто встречаемая концентрация микроорганизмов была 500—1000 тыс. в 1 см³. Сравнение полученных данных о количестве микроорганизмов в Северном Каспии с данными о количестве их в других соленоводных бассейнах показывает, что Северный Каспий гораздо богаче населен микроорганизмами, чем другие моря. Очевидно, этому способствуют больший приток органических и минеральных биогенных веществ с речными водами, более высокие температуры, большая опресненность, большой подток в силу мелководности органических веществ со дна моря.

2. Мелководные районы, как правило, содержат больше бактерий, чем глубоководные.

3. По мере углубления в море число микроорганизмов падает, что особенно ярко видно на трех разрезах, идущих в направлении от дельты р. Волги на юг — юго-восток к о-ву Бузачи, о-ву Кулалы. Это убывание числа микроорганизмов связано главным образом с подтоком минеральных и органических биогенных веществ, приносимых р. Волгой и концентрирующихся в районе преддельтового пространства в зоне стыка пресных и морских вод, где и происходит наиболее интенсивное развитие как фито- и зоопланктона, так и микрофлоры, в результате чего поступление биогенных веществ в более удаленные зоны значительно снижается. Некоторая роль в убывании числа микроорганизмов может быть приписана и возрастанию солености.

4. Аналогичная картина наблюдается и в западной части Северного Каспия, куда направлено одно из основных течений р. Волги, приносящее некоторые количества биогенных веществ.

5. Восточная часть Северного Каспия характеризуется более низкими по сравнению с западной частью бактериальными количествами, что по

всей вероятности объясняется как малым подтоком органических и минеральных биогенных веществ, так и большой соленостью.

6. Сток р. Урала оказывает малое влияние на концентрацию микроорганизмов как в преддельтовом районе, так и в районе Уральской бороздины.

7. Распределение биомасс микроорганизмов, высчитанных на основании измерений среднего размера бактериальных клеток в Северном Каспии, происходит согласно закономерностям, наметившимся в распределении численности микроорганизмов.

В среднем для преддельтовой зоны биомассы равняются 470—600 мг в 1 м^3, достигая иногда 750 мг в 1 м^3, в западной зоне биомассы выражаются в 260 мг в 1м^3.

8. При обсуждении биологической продуктивности северной части Каспийского моря необходимо учитывать микробиологический фактор, играющий для этого водоема особенно значительную роль.

Институт микробиологии
Академии наук СССР
Москва

Получено 26.IV.1954 г.

ЛИТЕРАТУРА

1. Буткевич В. С. О бактериальном населении Каспийского и Азовского морей. Микробиология, VII, 1005, 1938.
2. Буткевич В. С. О бактериальном населении морских вод в высокоширотных арктических областях. ДАН СССР, 19, 651, 1938.
3. Евдокимов Д. И. К микробиологическому исследованию заливов Комсомолец (Мертвый Култук) и Кайдак. АН СССР. Комиссия по комплексному изучению Каспийского моря (КАСП) и Совет по изучению производительных сил (СОПС). Тр. КАСП, вып. 1, ч. 1, стр. 213—230, 1937 [Тр. по комплексному изучению Каспийского моря. Заливы Каспийского моря Комсомолец (Мертвый Култук) и Кайдак].
4. Зенкевич Л. А. Фауна и биологическая продуктивность моря. Сов. наука, стр. 497, 1947.
5. Крисс А. Е., Лебедева М. Н. и Рукина Е. А. Распределение численности и биомассы микроорганизмов в море в зависимости от удаления от берега. ДАН СССР, LXXXVI, № 3, 633, 1952.
6. Крисс А. Е. и Рукина Е. А. Биомасса микроорганизмов и скорость их размножения в океанических глубинах. Журн. общ. биол., XIII, № 5, 346, 1952.
7. Кусморская А. П. Зоопланктон Северного Каспия. Диссертация, 1938. Рукопись.
8. Малиянц А. А. Микробиологическое исследование грунта Каспийского моря. Тр. Азерб. нефт. иссл. ин-та (АЗНИИ), вып. XVIII, геол. отд. стр. 1, 1933.
9. Осницкая Л. К. Распределение гнилостных, тионовокислых, метанокисляющих и водородокисляющих бактерий в грунтах Северного Каспия. Микробиология, XXII, 999, 1953.
10. Разумов А. С. Прямой метод учета бактерий в воде. Сравнение его с методом Коха. Микробиология, I, 131, 1932.
11. Рейнфельд Э. А. Микробиологическое исследование донных отложений заливов Комсомолец (Мертвый Култук) и Кайдак и Среднего Каспия. Комиссия по комплексному изучению Каспийского моря. Материалы по гидробиологии и литологии Каспийского моря. вып. 5, изд. АН СССР, 1938.
12. Трофимов А. О вертикальном распределении прозрачности в море. Метеорология и гидрология, № 6, стр. 12, 1938.
13. Усачев П. И. Фитопланктон Каспийского моря, 1941.
14. Усачев П. И. Количественные колебания биомассы фитопланктона в Северном Каспии. Тр. Ин-та океанологии, 2, 1946.

О СБРАЖИВАНИИ СУЛЬФИТНЫХ ЩЕЛОКОВ ДРОЖЖАМИ

Г. С. Китавин

Сбраживание щелоков на сульфитно-спиртовых заводах до последнего времени осуществлялось с применением насадок. На Балахнинском заводе последний раз смена культуры — прессованных дрожжей Московского дрожжевого завода — производилась в 1946 г.

Введение сепараторов делает более доступным управление процессом брожения. При этом важно детальное знакомство со свойствами дрожжей, приспособившихся к данной среде, т. е. к сульфитным щелокам. Поэтому представляло интерес исследовать на Балахнинском заводе его дрожжевую микрофлору при переходе на новый метод брожения.

Пробы сепарированных дрожжей отбирались в стерильную посуду. Выделение чистых культур осуществлялось из отдельных колоний после рассева на солодовый сусло-агар в чашках Петри. Некоторые культуры выделены из бродильных чанов и градирни.

С целью определения систематического положения культур они изучались на всех необходимых для этого по определителю [4] жидких и твердых питательных средах и по совокупности данных были отнесены к видам Saccharomyces cerevisiae и Sacch. exiguus (Rees.) Hansen.

Для установления способности различных культур дрожжей сбраживать сахара использовались бродильные трубки Эйнгорна. После испытания ряда вариантов мы нашли, что наиболее четкие результаты получаются с густой суспензией дрожжей (около 100 млн. на 1 мл.). Поэтому опыты ставились таким образом, что 10 мл стерильного 3%-ного раствора сахара (+3% дрожжевого автолизата) вносились в пробирку с двухсуточной культурой дрожжей на сусло-агаре и весь смыв этой культуры переносился в стерилизованную сухим жаром трубку Эйнгорна.

Известно, что сульфитные щелоки содержат к общему количеству сахаров 27—35% глюкозы, 34—37% маннозы, 4—5% галактозы, около 30% пентоз и, возможно, 0,5—3% фруктозы.

В табл. 1 даны средние данные по сбраживанию сахаров 28 выделенными нами культурами дрожжей.

Таблица 1

Сбраживание сахаров дрожжами в трубках Эйнгорна

Вид дрожжей	Число исследованных культур	Глюкоза		Галактоза		Сахароза		Мальтоза	
		начало	окончание	начало	окончание	начало	окончание	начало	окончание
трех ных и фито- и зоо биогенных веще	17	2	$11^3/_4$	$26^1/_2$	$48^1/_2$	$2^3/_4$	$24^1/_2$	$4^1/_2$	$25^1/_4$
Некоторая роль в у писана и возрастанию	8	2	12	$4^3/_4$	<21	$2^1/_2$	<22	брожения нет	
4. Аналогичная картина Каспия, куда направлено одно некоторые количества биогенных веществ.		$11^1/_4$	$10^1/_2$	21	29	2	<24	4	23

5. Восточная часть Северного Каспия характеризуется начала опыта; средпо сравнению с западной частью бактериальными количест

Из табл. 1 следует, что по сбраживанию глюкозы и сахарозы между различными культурами дрожжей нет различий. По сбраживанию мальтозы резко выделяются Sacch. exiguus, которые совершенно не сбраживают этот углевод (время наблюдения 3 суток). На твердой среде, содержащей 5% мальтозы и 5% дрожжевого автолизата, рост Sacch. exiguus отсутствует. Галактоза сбраживается (табл. 1) Sacch exiguus в первые сутки от начала опыта, когда Sacch. cerevisiae еще не начинали брожения. Однако к концу вторых суток и Sacch. cerevisiae сбраживают данный сахар. Прикрепляющиеся к рейкам насадки в чанах дрожжи Sacch. cerevisiae обладают очень сильно выраженной способностью клеток слипаться в комочки и прикрепляться к твердым субстратам. При культивировании на моркови и картофеле эта способность утрачивается почти полностью, что наблюдалось в отношении дрожжей и ранее [1]. Ни одна из полученных нами культур не сбраживала ксилозу и лактозу. Рафиноза легко сбраживалась всеми культурами. Вместо 25—28 мл CO_2 (на сахарозе) при сбраживании рафинозы выделялось лишь 4,8—5,2 мл CO_2, что указывает на отсутствие сбраживания мелибиозы.

Sacch. cerevisiae, неприкрепляющаяся раса, по разнообразию величины и формы клеток, наличию в них вакуолей, сильному пенообразованию при брожении и форме колоний напоминают II расу этого вида дрожжей.

Что касается Sacch. exiguus, то споры (диаметром 1 — 1,5 μ) нам удавалось получать лишь у очень малого числа клеток. На спирте Sacch. exiguus дают скудный рост и довольно много нитевидных форм (толщина нитей 0,5—1 μ).

Таким образом, дрожжи Sacch. exiguus, обнаруженные Мазилкиным [1] на Череповецком гидролизном заводе, принимают участие в сбраживании сульфитных щелоков на Балахнинском заводе. Исходя из подсчета числа колоний на чашках Петри, можно сказать, что около 30% от общего числа дрожжевых клеток, взвешенных в бродящем сусле, падает на долю Sacch. exiguus. При микроскопическом просмотре бродящего сусла из чанов на заводе обнаруживаются как крупные одиночные или парные клетки Sacch. cerevisiae, так и цепочки из четырех мелких клеток Sacch. exiguus.

Наличие в сульфатном щелоке галактозы, по скорости сбраживания которой так сильно различаются выделенные нами дрожжи, заставило предположить, что щелок будет глубже сбраживаться Sacch. exiguus. Действительно испытания показали, что если вместо чистого раствора галактозы культуру дрожжей с сусло-агара из пробирки смыть в трубку Эйнгорна 10 мл сульфитного щелока, то выделенные нами культуры Sacch. cerevisiae начинают брожение через $4^1/_2$ часа после начала опыта и оканчивают его через $11^1/_2$ часа при 7,1 мл выделившейся CO_2 (среднее из 12 опытов на 7 культурах). Культуры Sacch. exiguus за время от[illegible]). до $8^3/_4$ часа дают 10,6 мл CO_2 (среднее из 13 опытов на 7 культур[illegible]культур Веществ, редуцирующих реактив Фелинга после брожен[illegible],82%. Оче-Sacch. cerevisiae, осталось 0,87%, культур Sacch. exiguus. cerevisiae не видно, галактозу, содержащуюся в щелоке, дрожжи [illegible] успевают сбродить полностью.

При переходе на непрерывный способ бро[illegible]ния на заводе представляло интерес сравнить сбраживание сул[illegible]ных щелоков различными видами дрожжей при многократных [illegible]кого рода опытов велось на пивном

Наращивание дрожжей для [illegible]рожжей в пробирке на косом сусло-агаре сусле (8—9° Блг.). Культура [illegible]лась в колбочку на 250 мл, содержавшую (возрастом 2 суток) смы[illegible]. Выращивание велось двое суток при периодическом взбалтывании. Темпе[illegible]тура при всех опытах была 28—30°. После определения числа клето[illegible] дрожжи центрифугировались и размешивались в таком объеме сул[illegible]фитного щелока, чтобы в 1 мл его содержалось по

50 млн. клеток дрожжей. По 100 мл такой взвеси разливалось в колбы на 250 мл, которые закрывались ватными пробками. Во всех опытах использовался только один образец сульфитного щелока, доставленный с Приозерского завода (РВ с осаждением свинцом 2,26%, pH = 4,8). При кипячении в него вносилось на 1 л по 0,3 г сульфата аммония и 0,3 г суперфосфата. Затем он охлаждался до 30° и использовался для опытов.

По окончании брожения бражка центрифугировалась и в ней определялся спирт (флотационным методом) [2] и редуцирующие вещества (РВ). Дрожжи снова взмучивались в свежей порции сусла и цикл брожения повторялся.

Благодаря тому, что клетки Sacch. exiguus в полтора-два раза мельче клеток Sacch. cerevisiae, при равном числе клеток (50 млн. на 1 мл), культура Sacch. cerevisiae содержит около 1 г дрожжей, а культура Sacch. exiguus не более 0,3 г на 100 мл взвеси. (В одном из опытов 1 г сырого веса дрожжей Sacch. exiguus содержал 23,5 млрд. клеток, а дрожжей Sacch. cerevisiae только 5,3 млрд., в другом опыте соответственно 22,0 и 3,9 млрд.)

В табл. 2 даны выходы спирта (среднее из опытов на 5 культурах Sacch. cerevisiae и на 5 культурах Sacch. exiguus). Для сравнения параллельно было проведено сбраживание щелока культурой Schizosaccharomyces Хорского завода, любезно предоставленной нам Э. Э. Друблянец [1]. Из данных табл. 2 следует, что при первых трех сменах культуры Sacch. exiguus дали больше спирта, чем культуры Sacch. cerevisiae, а затем их бродильная активность резко снизилась. Культура Schizosaccharomyces Хорского завода дала особенно высокие и устойчивые выходы спирта в этой серии опытов.

Таблица 2

Сбраживание сульфитного щелока при многократных сменах среды (спирт в процентах)

Смены среды	Sacch. cerevisiae	Sacch. exiguus	Schizosaccharomyces
Пивное сусло после выращивания дрожжей	2,33	0,53	3,56
I на 2 суток на 100 мл щелока	0,65	0,78	0,92
II „ 1 сутки „ 100 „ „	0,51	0,91	0,94
III „ 2 суток „ 200 „ „	0,70	0,97	0,97
IV „ 1 сутки „ 100 „ „	0,63	0,64	0,94
V „ 1 „ „ 100 „ „	0,67	0,55	0,92

В культуре первой смены на сульфитном щелоке были определены РВ. exiguus — 0,[illegible] Sacch. cerevisiae остались несброженными 0,98% РВ, Sacch. дрожжей после [illegible] РВ и Schizosaccharomyces — 0,72% РВ. Число клеток мертвых клеток — 57, [illegible] соответственно 88, 124 и 76 млн. в 1 мл, из них [illegible] 27% соответственно для трех видов дрожжей.

Следовательно, Sacch. [illegible] вании данного образца щелока [illegible] оказались менее стойкими при сбражи- Большая глубина сбраживания [illegible] способными глубже его сбраживать. объясняется их способностью быстро [illegible] ка этими дрожжами, возможно, бенность данных дрожжей не может быть [illegible] авлена без внимания.

[1] Автор выражает Э. Э. Друблянец глубокую благодарность за [illegible] руководящих указаний в работе.

Выводы

1. Сепарируемые дрожжи Балахнинского сульфитно-спиртового завода состоят из дрожжей вида Sacch. exiguus (около 30%) и Sacch. cerevisiae (около 70%).

2. Выделенные культуры Sacch. exiguus значительно быстрее сбраживают галактозу, чем остальные сепарируемые дрожжи.

3. Sacch. exiguus способны глубже сбраживать сульфитное сусло и дают выходы спирта примерно на 5% выше, чем дрожжи Sacch. cerevisiae. Однако последние гораздо устойчивее при многократных сменах среды, чем, возможно, и объясняется их преобладание в производстве.

4. Дрожжи Schizosaccharomyces на сульфитном сусле дают высокие выходы спирта и заслуживают изучения в этом направлении.

Всесоюзный научно-исследовательский
Институт гидролизной и слуьфитно-
спиртовой промышленности
Ленинград

Получено 24.II.1954 г.

ЛИТЕРАТУРА

1. Мазилкин И. А. О дрожжах гидролизного производства спирта. Микробиология, VII, 611, 1938.
2. Низовкин В. К. и Корольков И. И. Флотационный метод определения спирта. Гидролизная промышленность, № 1, 9, 1948.
3. Rabenhorst L. Kryptogamen Flora. 2 Aufl., 1884.
4. Stelling-Dekker N. M. Die sporogenen Hefen. Amsterdam, 1931.

МИКРОАЭРАТОР — ПРИБОР ДЛЯ ФИЗИОЛОГИЧЕСКИХ ИССЛЕДОВАНИЙ АЭРОБНЫХ МИКРООРГАНИЗМОВ

В. И. Любимов

В практике многих разделов технической микробиологии (производство дрожжей, антибиотических веществ, ферментативных препаратов, витаминов, органических кислот, бактериальных удобрений и т. д.) широко применяется выращивание микроорганизмов при непрерывной аэрации — так называемый «глубинный метод». Широкому и быстрому внедрению «глубинного метода» способствовали его технологические и экономические преимущества по сравнению с другими способами культивирования аэробных микроорганизмов.

Клетки бактерий, а также и многих грибов [6], выращенные при непрерывной аэрации, не только физиологически наиболее однотипны, но они имеют иной состав и активность ферментативных систем [7].

Совершенно очевидно, что представления о характере физиологических процессов, происходящих в выращиваемых таким способом клетках, а следовательно, и совершенствование соответствующих процессов, не могут основываться на прежних результатах, полученных при иных способах выращивания. Если физиологическое и биохимическое исследование того или иного микроорганизма имеет целью усовершенствовать соответствующее производство, оно должно проводиться в условиях, максимально приближающихся к технологическим.

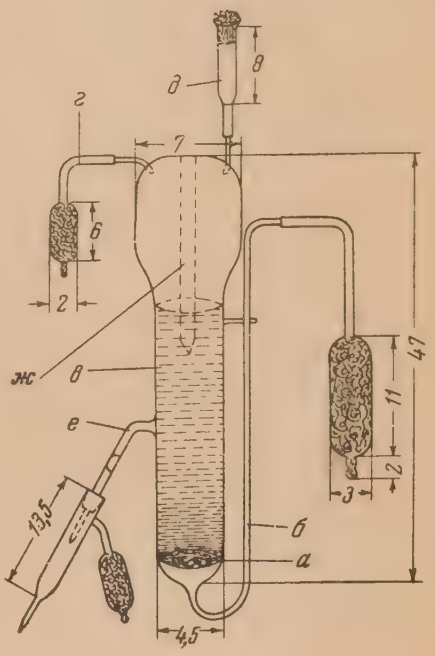
В ряде случаев, например, явления, наблюдаемые во встряхиваемых культурах, имеют совершенно иной характер в культурах, продуваемых воздухом.

Описаны многочисленные приспособления для осуществления «глубинного метода» в полузаводских или лабораторных условиях [4]. Но в большинстве случаев эти установки непригодны для точных физиологических и биохимических опытов. Для последней цели предложены самые различные приборы [1, 2, 3, 5, 8]. В данном случае перед каждым экспериментатором открыты неограниченные возможности. Конструкция небольшого лабораторного прибора для культивирования и физиологических исследований аэробных микроорганизмов в условиях непрерывной аэрации должна удовлетворять следующим требованиям:

1. Исключать возможность попадания посторонних микробов.
2. Обеспечивать максимальное распыление воздуха или чистого газа.
3. Давать возможность в любой момент опыта асептически отбирать пробы для анализа или добавлять к среде различные вещества (пеногасящие, питательные, ферментные яды, стимуляторы роста, газовые смеси и т. д.).
4. Позволять количественно учитывать превращаемый субстрат и образуемые продукты.
5. Давать возможность производить опыты в разных объемах, в том числе небольших,— например, при работе с меченными изотопами соединениями и другими ценными веществами.
6. Быть надежным, простым по устройству и обращению.
7. Быть доступным для любой, даже небольшой, лаборатории.

Ниже описывается микроаэратор [1], которым мы с успехом пользуемся в течение нескольких последних лет для культивирования ряда аэробных бактерий (различные виды азотобактера, Micrococcus ureae и другие) с целью изучения их ферментативных систем. Пользуясь микроаэратором, при оптимальных физиологических условиях удается получать культуры, содержащие в 1 мл десятки миллиардов клеток.

Микроаэратор представляет собой стеклянный цилиндр высотой в 45 см, имеющий расширение в верхней части. В нижнюю часть цилиндра вплавлена пористая стеклянная пластинка (*а*), соответствующая по плотности стеклянному фильтру № 3 завода «Дружная горка»; она распыляет поступающий через трубку (*б*) воздух на мельчайшие пузырьки, которые, проходя через толщу питательной среды (*в*), насыщают ее кислородом. Отработанный воздух удаляется через отросток (*г*).



Для засева культуры и дополнительного введения (до посева или в ходе опыта) различных веществ (в том числе индикаторов pH, нейтрализующих растворов, пеногасителей и т. д. служит трубка (*д*).

Отбор проб в ходе опыта производится через отводную трубку (*г*), соединенную с «приемником», исключающим нарушение стерильности опыта при отборе проб. В резиновой трубке, соединяющей приемник с микроаэратором, помещен отрезок стеклянной трубки (или бусинка), замыкающий просвет трубки и позволяющий отбирать пробы культуры. Такая же бусинка замыкает «приемник» в нижней его части. Наблюдения за температурой среды производятся при помощи термометра, помещенного в особую стеклянную трубку (*ж*), которая открытым концом вплавлена в верхнюю часть микроаэратора, а закрытым — погружена в питательную среду. При заполнении микроаэратора на $^2/_3$ его высоты он вмещает 500 мл среды. Рабочий объем микроаэратора отградуирован на отрезки, соответствующие 25 мл жидкости. Поступающий для продувания воздух предварительно проходит через ватный фильтр, полностью освобождаясь от микроорганизмов, находящихся в воздухе. Аэрирование можно производить как пропусканием воздуха под давлением (0,3—0,5 атм) через трубку (*б*), так и при помощи создания вакуума в сосуде (например, при помощи водоструйного насоса), откачивая воздух через трубку (*г*); и в том и другом случае скорость продувания (или количество продуваемого воздуха) можно дозировать, пользуясь винтовым зажимом, наложенным на соединительную резиновую трубку, и измерительными приборами (газовые часы, реометр и т. п.). Полная герметичность прибора дает возможность производить полный учет образующихся в ходе роста культуры газообразных продуктов и потребления кислорода (в течение коротких промежутков времени на определенной стадии развития культуры).

Микроаэратор, заполненный питательной средой, вместе с дополнительными приспособлениями, обеспечивающими стерильность, стерили-

[1] Прибор по нашим указаниям выполнен стеклодувом И. М. Еременко.

зуется в автоклаве. При желании микроаэратор может быть, после некоторого изменения, снабжен электродами для определения pH и окислительно-восстановительного потенциала. При работе с меньшими, чем 500 мл, объемами среды отросток (*е*) должен быть устранен соответственно ниже.

Несколько микроаэраторов помещается в термостат. Мы с большими удобствами приспособили под термостат шкаф, створки которого остеклены двумя стеклами (с воздушной прослойкой), а стенки снабжены термоизоляцией. Температура поддерживалась электрическим (ламповым) нагревом с автоматической регулировкой.

Несколько последовательно соединенных микроаэраторов могут служить для опытов с проточными (непрерывными) культурами. По окончании опыта микроаэратор моется, как обычная химическая посуда.

Люберецкая лаборатория
научно-исследовательского отдела
треста «Мосочиствод»

Получено 12.IV.1954 г.

ЛИТЕРАТУРА

1. Имшенецкий А. А. Микробиология целлюлозы. Изд. Акад. наук СССР, 1953.
2. Пасынский А. Г. и Неймарк А. М. Стеклянный лабораторный ферментер. Микробиология, XXI, 504, 1952.
3. Первозванский В. В. и Ивашкевич М. А. Образование глюконовой кислоты у Bacterium putiodum L. et N. Микробиология, VIII, 399, 1939.
4. Прескот С. и Ден С. Техническая микробиология. Изд. иностр. литературы, 1952.
5. Работнова И., Кондратьева Е., Нетте И. и Аронес С. Фиксация азота атмосферы азотобактером при различных условиях аэрации. Микробиология, XVIII, 509, 1949.
6. Фостер Д. Химическая деятельность грибов. Изд. иностр. литературы, 1950.
7. Dagley S. and Dawes E. A. Citric acid metabolism of Aerobacter aerogenes. J. Bact., **66**, 259, 1953.
8. Wood H. G., Brewer C. R., Mickelson M. N. and Werkman C. H. A macrorespirometer for the study of the aerobic metabolism of micro-organisms. Enzymologia. VIII, 314, 1940.

О РОЛИ АНТИБИОТИЧЕСКИХ ВЕЩЕСТВ СОКА ХЛОПЧАТНИКА В ИММУНИТЕТЕ ЕГО К УВЯДАНИЮ

Г. М. Кублановская и *Н. В. Браилова*

Устойчивость растений к определенным заболеваниям, как правило, обуславливается не одним, а целым рядом факторов. К числу этих факторов, как известно, относятся различные морфологические, анатомические, физиологические и биохимические особенности растений. Одним из факторов естественной невосприимчивости растений к болезням являются, согласно Токину, так называемые фитонциды — антимикробные вещества высших растений [7].

Этой точки зрения придерживается также Горленко [2]. Имеются экспериментальные работы, указывающие на связь между иммунитетом растений к некоторым болезням и наличием в их соке антимикробных веществ. Опарин и Купленская [6] в соке иммунного корня свеклы нашли вещества, специфически задерживающие развитие кагатных микроорганизмов. Хетагуровой [8] установлено, что степень заболеваемости цитрусовых бактериозом, вызываемым Ps. citriputeale, обратно пропорциональна количеству летучих и нелетучих антимикробных веществ в этих растениях.

По данным Борзовой (см. Токин [7]), сок клубня фитофтороустойчивого сорта картофеля останавливает движение зооспор Phytophtora infestans быстрее, чем сок из клубней неустойчивых сортов.

Березова [1] связывает степень поражения люцерны Bac. macerans с накоплением и выделением корнями люцерны антимикробных веществ против этой бактерии.

Крамаренко [4] изучала различные сорта хлопчатника, как устойчивые, так и неустойчивые к гоммозу. Исследования показали, что клеточный сок всех изучавшихся устойчивых сортов обладал бактерицидным действием в отношении возбудителя гоммоза. Автором обнаружена обратная зависимость между степенью бактерицидности клеточного сока и восприимчивостью сорта к гоммозу. Ирвинг, Дулитл и Фонтейн (Irving, Doolittle и Fontaine [9]) выделили из томатов антимикробное вещество — ликоперсицин, в дальнейшем названное томатином. Авторы также связывают иммунитет некоторых сортов томата к увяданию и бактериозу с наличием в их соке ликоперсицина, активного в отношении возбудителей этих заболеваний.

Капустинский [3] обнаружил антимикробную активность пигмента из цветов мака, резистентного к заболеваниям. Пигмент этот относится к группе антоцианов, имеющих сходство по химическому строению с некоторыми антибиотиками микробов, ввиду чего автор связывает антимикробную активность с повышенным иммунитетом растений, содержащих антоцианы.

Приведенные литературные данные о биологической роли антимикробных веществ растений как факторов иммунитета послужили основанием для постановки излагаемых ниже исследований.

Методика

Для обнаружения в соке хлопчатника антибиотических веществ нами были испытаны все методы, описанные в литературе: метод колодца, метод целлофановых пластинок, метод колец и т. д. Испытывалась кашица, получаемая из свежих растений, и фильтраты сока, полученные при помощи фильтра Зейтца. При приготовлении кашицы поверхность растения предварительно стерилизовалась сулемой (в разведении 1 : 1000) с последующим трехкратным промыванием стерильной водой. Методом целлофановых пластинок испытывалась кашица, а методом колец — фильтраты. Из всех испытанных нами методов наилучшие результаты дал метод целлофановых пластинок и метод колец. Метод целлофановых

пластинок заключается в следующем: стерильные целлофановые пластинки накладываются на поверхность застывшей в чашках Петри агаровой среды, зараженной тест-организмом — Fusarium. На поверхности целлофановой пластинки, в центре чашки, на площади 4 см² накладывается 1 г кашицы, приготовленной из растений или семян хлопчатника. Затем чашка помещается в холодильник при температуре 2—4° на 12 часов, чтобы антибиотические вещества из сока успели продиффундировать в агар до того как начнется рост гриба. Затем целлофановая пластинка вместе с кашицей снимается с поверхности агара и чашка ставится в термостат при 28°. Через двое суток по наличию стерильной зоны судят о присутствии антибиотических веществ в кашице.

При использовании метода колец, детально описанного Красильниковым [5], мы поступали следующим образом: стерильные стеклянные кольца-цилиндрики [1] накладывались на поверхность агара по 3 штуки в одну чашку Петри. Агар предварительно заражался Fusarium. Затем в каждый цилиндрик наливалось стерильной пипеткой по 0,15 мл фильтрата сока хлопчатника, полученного при помощи фильтра Зейтца. Чашки Петри помещались в термостат и через двое суток по появлению стерильных зон вокруг стеклянных цилиндриков судили о наличии антибиотических веществ в фильтрате. Специальными опытами было установлено, что наилучшей питательной средой для обнаружения антибиотических веществ сока хлопчатника является картофельный агар, оптимальным pH 5,8—6,0 (соответственно pH сока молодых растений хлопчатника).

Экспериментальная часть

Увядание хлопчатника вызывается двумя возбудителями — Fusarium vasinfectum и Verticillium dahliae. Фузариозное увядание поражает только сорта тонковолокнистого хлопчатника и проявляется главным образом на всходах. По отношению к этому заболеванию имеются, с одной стороны, почти иммунные сорта (заболеваемость равна 0—5%), а с другой стороны,— сорта, поражаемые на 100% в совсем молодом возрасте.

Вертициллиозное увядание поражает только сорта советского длинноволокнистого хлопчатника и начинает проявляться лишь в фазе бутонизации и цветения, а до этого периода хлопчатник не поддается даже искусственному заражению. Высокоиммунных сортов советского длинноволокнистого хлопчатника пока нет, есть только относительно устойчивые (заболеваемость колеблется от 10—12 до 30%).

Первоначальным объектом исследования был взят тонковолокнистый хлопчатник, поражаемый фузариозным увяданием в фазе всходов, что позволяло использовать для исследования семена и совсем молодые растения.

В наших исследованиях были использованы следующие сорта тонковолокнистого хлопчатника: 910И и 35-1, сильно воспримчивые к фузариозному увяданию, 2525, 504В и 35-2, высоко устойчивые к этой болезни, и 10964 и 2850, также устойчивые, но несколько слабее, нежели предыдущие — среднеустойчивые.

На первом этапе работы исследовались семена непроросшие и проросшие. Проращивание семян производилось стерильно в широких пробирках, в определенном объеме стерильной воды, равном во всех вариантах опыта. Семена стерилизовались сулемой (1 : 1000) с последующим трехкратным промыванием стерильной водой. В непроросших семенах, также предварительно простерилизованных, испытывалось их содержимое. В проросших семенах исследовались проростки, отделенные от семян, и содержимое семени после удаления проростка. Исследования

[1] Высота 1 см, внутренний диаметр 0,6 см, наружный — 0,8 см.

производились методом целлофановых пластинок в двукратной повторности. В каждой повторности использовалось по 10—15 семян или проростков. Следовательно, в каждом опыте исследовалось по 20—30 растений на каждый сорт. Оказалось, что непроросшие семена тонковолокнистого хлопчатника, как устойчивых, так и неустойчивых сортов, не содержат антибиотических веществ в отношении фузариума. Результаты, приведенные в табл. 1, показывают, что проросшие семена хлопчатника восприимчивых сортов 910И и 35-1 в большинстве случаев не содержали веществ, останавливающих рост фузариума. Зоны отсутствия роста гриба, обнаруженные в единичных случаях, были гораздо меньше, чем у испытываемых устойчивых сортов хлопчатника. Испытанные четыре устойчивых сорта хлопчатника образовали стерильные зоны во всех опытах, причем зоны были чистые, четкие, диаметром 0,5—3 см.

Отсутствие антагонистических к фузариуму веществ у непроросших семян и наличие их в проросших семенах, повидимому, можно объяснить тем, что эти вещества, играя защитную роль, появляются в результате активизации биохимической деятельности только у прорастающих семян, которые с момента прорастания подвержены заболеванию увяданием.

Таблица 1

Наличие антибиотических к Fusarium vasinfectum веществ в проросших и непроросших семенах тонковолокнистого хлопчатника

Сорт хлопчатника	Непроросшие семена			Проросшие семена		
	общее число опытов	стерильные зоны отсутствовали	стерильные зоны имеются	общее число опытов	стерильные зоны отсутствовали	стерильные зоны имеются
Восприимчивый 910И . .	4	4	0	8	6	2
„ 31-1 . . .	—*	—	—	5	3	2
Устойчивый 504В	—*	—	—	8	0	8
„ 2525	—*	—	—	8	0	8
„ 35-2	—*	—	—	7	0	7
Среднеустойчивый 10964 .	4	4	0	4	1	3

* В период проведения этих опытов по техническим причинам не было возможности использовать эти сорта.

Установив наличие антимикробных к Fusarium vasinfectum веществ в соке устойчивых сортов тонковолокнистого хлопчатника и отсутствие их у неустойчивых сортов, мы перешли к выяснению наличия этих веществ в различные фазы развития и в различных органах хлопчатника. Для этой цели семена восприимчивых и устойчивых к фузариозному увяданию сортов тонковолокнистого хлопчатника высевались в вегетационные сосуды; исследовались молодые растения в фазе семядольных листьев и в фазе 2—3 настоящих листьев. В следующей серии опытов у растений в фазе семядольных листьев и в фазе 2—3 настоящих листьев анализировались отдельно корни, стебли и листья. Исследования проводились главным образом методом целлофановых пластинок и только небольшое число опытов — методом колец. Из неустойчивых сортов испытывались те же два, что и в предыдущих опытах, а из устойчивых — 35-2, 504В, 2525 и 2850. Результаты опытов приведены в табл. 2 и 3.

Из данных табл. 2 можно видеть, что в 63—100% всех опытов устойчивые сорта содержали вещества, останавливающие рост Fusarium vasinfectum. Неустойчивые же сорта в 61—100% опытов этих веществ не

Таблица 2

Распределение антибиотических к Fusarium vasinfectum веществ на различных стадиях развития тонковолокнистого хлопчатника

Сорт хлопчатника	Проросшие семена					Стадия семядольных листьев					Стадия 2— настоящих листьев				
	общее число опытов	стерильные зоны отсутствуют		стерильные зоны имеются		общее число опытов	стерильные зоны отсутствуют		стерильные зоны имеются		общее число опытов	стерильные зоны отсутствуют		стерильные зоны имеются	
		число опытов	%	число опытоз	%		число опытов	%	число опытоз	%		число отытоз	%	число опытов	%
Восприимчивый 35-1	10	7	70	3	30	18	11	61	7	39	4	3	75	1	25
„ 910И	2	2	100	0	0	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Устойчивый 35-2	6	0	0	6	100	9	0	0	9	100	2	0	0	2	100
„ 504В	8	2	25	6	75	21	4	19	17	81	2	0	0	2	100
„ 2525	7	2	29	5	71	18	1	10	19	90	2	0	0	2	100
Среднеустойчивый 2850*	4	1	25	3	75	8	3	37	5	63	3	1	33	2	67

* В наших опытах.

Таблица 3

Распределение антибиотических к Fusarium vasinfectum веществ в разных органах тонковолокнистого хлопчатника

Сорт хлопчатника	Корни					Стебли					Листья				
	общее число опытов	стерильные зоны				общее число опытов	стерильные зоны				общее число опытов	стерильные зоны			
		отсутствуют		имеются			отсутствуют		имеются			отсутствуют		имеются	
		число опытов	%	число опытов	%		число опытов	%	число опытов	%		число опытов	%	число опытов	%
Восприимчивый 35-1	11	7	64	4	36	11	7	64	4	36	6	5	83	1	17
Устойчивый 35-2	6	0	0	6	100	5	—	0	5	100	2	1	50	1	50
„ 2525	10	1	10	9	90	10	0	0	10	100	5	1	20	4	80
„ 504В	15	2	13	13	87	14	2	14	12	86	3	1	33	2	67
Среднеустойчивый 2850*	6	2	33	4	67	5	2	40	3	60	3	2	66	1	34

* В наших опытах.

Таблица 4

Распределение антибиотических к Verticillium dahliae веществ на разных фазах развития советского длинноволокнистого хлопчатника

Фазы развития хлопчатника	Восприимчивый сорт 8517					Устойчивый сорт 108-ф				
	общее число опытов	стерильные зоны				общее число опытов	стерильные зоны			
		отсутствуют		имеются			отсутствуют		имеются	
		число опытов	%	число опытов	%		число опытов	%	число опытов	%
Проростков	5	0	0	5	100	6	0	0	6	100
Семядольных листьев	9	0	0	9	100	10	0	0	10	100
2—3 настоящих листьев	6	6	100	0	0	4	0	0	4	100
Бутонизации	4	3	75	1	25	5	1	20	1	80
Плодообразования	3	2	67	1	33	8	1	13	7	87

Таблица 5

Наличие антибиотических к Verticillium dahliae веществ в разных органах советского длинноволокнистого хлопчатника в фазе семядольных листьев

Сорт хлопчатника	Корни					Стебли					Листья				
	общее число опытов	стерильные зоны				общее число опытов	стерильные зоны				общее число опытов	стерильные зоны			
		отсутствуют		имеются			отсутствуют		имеются			отсутствуют		имеются	
		число опытов	%	число опытов	%		число опытов	%	число опытов	%		число опытов	%	число опытов	%
Восприимчивый 8517	4	0	0	4	100	4	0	0	4	100	4	3	75	1	25
Устойчивый 108-ф	4	0	0	4	100	4	0	0	4	100	4	4	100	0	0

содержали. В тех немногих опытах, где неустойчивые сорта образовывали стерильные зоны, последние были гораздо меньше, чем у устойчивых сортов.

Тот факт, что неустойчивые сорта иногда содержат в незначительном количестве вещества, останавливающие рост Fusarium vasinfectum, можно объяснить разнокачественностью сорта. Известно, что различные растения одного и того же сорта, выращиваемые в одинаковых условиях, обладают различной степенью устойчивости, что объясняется индивидуальными особенностями отдельных растений.

Данные табл. 2 показывают также, что наиболее постоянно и четко наличие антимикробных веществ обнаруживается в фазе 2—3 настоящих листьев. Антимикробные к Fusarium вещества распределяются в различных органах хлопчатника неодинаково, что видно из табл. 3. В то время как у высокоустойчивых сортов корни и стебли образовывали стерильные зоны в 90—100% опытов, листья тех же сортов обнаруживали их только в 50—80% опытов, причем зоны от листьев получаются не такие большие и четкие, как от стеблей и корней. Эта же закономерность в распределении антимикробных веществ отмечается и у неустойчивого сорта 35-1 и у среднеустойчивого 2850.

Отсутствие антимикробных к Fusarium веществ у неустойчивых сортов и наличие их у устойчивых к фузариозному увяданию сортов тонковолокнистого хлопчатника и в особенности преимущественное накопление антимикробных веществ в корнях и стеблях — органах, через которые проникает инфекция, говорит о защитной биологической роли этих веществ.

Следующий этап нашей работы был посвящен исследованиям устойчивых и неустойчивых сортов советского длинноволокнистого хлопчатника, поражаемого вертициллозным увяданием.

Мы выяснили наличие антимикробных к Verticillium веществ у восприимчивых и устойчивых сортов в различные фазы развития и в различных частях растений хлопчатника. Выяснение наличия антимикробных веществ в зависимости от фазы развития имеет особое значение при изучении вертициллиозного увядания. Как уже было сказано выше, советский длинноволокнистый хлопчатник поражается вертициллозным увяданием, только начиная с фазы бутонизации. До бутонизации ни устойчивые, ни восприимчивые сорта не заражаются даже при искусственном заражении корней или стеблей, хотя это прекрасно удается на тех же сортах, начиная с фазы бутонизации. Таким образом, до фазы бутонизации даже высоковосприимчивые сорта как бы иммунны. В связи с этим мы исследовали восприимчивые и устойчивые сорта в фазу проростков, в фазу семядольных листьев, 2—3 настоящих листьев, в фазу бутонизации и в фазу плодообразования. Кроме того, в первую фазу исследовалось все растение целиком, в фазу семядольных листьев исследовались отдельно листья, корни и стебли, а в последние три фазы — только корни. Работа велась с двумя восприимчивыми к вертициллиозному увяданию сортами советского длинноволокнистого хлопчатника — 8517 и 611б и с одним относительно устойчивым сортом — 108-ф.

Результаты всех этих исследований приведены в табл. 4 и 5. Данные табл. 5 показывают, что антимикробные к Verticillium dahliae вещества почти полностью отсутствуют в листьях и постоянно имеются в стеблях и корнях, что совпадает с данными, полученными по фузариозному увяданию.

Из табл. 4 явствует, что в фазе проростков и семядольных листьев устойчивый и восприимчивый сорта хлопчатника в 100% случаев содержали антимикробные вещества, но начиная с фазы 2—3 настоящих листьев и во всех последующих фазах наблюдается другая картина: у относительно устойчивого сорта 108-ф антимикробные вещества продолжают обнаруживаться в 80—100% опытов, а у восприимчивых сортов 8517

и 611б в 64—100% опытов эти вещества не обнаруживаются. Небольшой процент отклонений от указанной закономерности у устойчивого и восприимчивого сортов, как уже упоминалось, объясняется, повидимому, разнокачественностью сорта, тем более что восприимчивый сорт 8517 поражается вертициллиозным увяданием не на 100%, а относительно устойчивый сорт — 108-ф может поражаться увяданием в пределах в среднем 20—30%. Таким образом, и данные, полученные по вертициллиозному увяданию, обнаруживают связь между наличием антимикробных к Verticillium dahliae веществ в соке хлопчатника и его устойчивостью к увяданию. Особенный интерес представляет наличие антимикробных веществ у восприимчивого сорта на ранних фазах развития, когда он не поражается этой болезнью, и исчезновение их у того же сорта в период, когда он начинает подвергаться этому заболеванию.

Аналогичные данные о связи между накоплением антимикробных веществ в клеточном соке, возрастом растения и его восприимчивостью к заболеванию приводятся также Хетагуровой [8], Крамаренко [4] и др.

Выводы

1. Антимикробные вещества, токсичные для Fusarium, имеются у сортов тонковолокнистого хлопчатника, устойчивых к фузариозному увяданию, и отсутствуют или имеются в незначительном количестве у сортов, восприимчивых к этой болезни.

2. Непроросшие семена тонковолокнистого хлопчатника антимикробных веществ не содержат. Эти вещества обнаруживаются у прорастающих семян. Наиболее постоянно и четко наличие их обнаруживается в фазе 2—3 настоящих листьев.

3. Антимикробные вещества, активные против Verticillium dahliae, обнаруживаются у устойчивых к вертициллиозному увяданию сортов советского длинноволокнистого хлопчатника во всех фазах его развития, начиная с проростков и кончая фазой плодообразования. У неустойчивых сортов антимикробные вещества, токсичные к Verticillium dahliae, обнаруживаются только в ранних фазах развития, когда хлопчатник невосприимчив к вертициллиозному увяданию. Эти вещества исчезают к моменту бутонизации, когда растение становится восприимчивым к этой болезни.

4. Антимикробные вещества, активные против возбудителей увядания хлопчатника, накапливаются главным образом в корнях и стеблях, т. е. в тех органах хлопчатника, через которые грибы-возбудители проникают в растение и распространяются в нем. Особенно четко это обнаруживается при исследовании антимикробных веществ советского длинноволокнистого хлопчатника в отношении возбудителя вертициллиозного увядания.

5. Приведенные данные, указывающие на связь между устойчивостью хлопчатника к увяданию и наличием в его соке антимикробных веществ, активных против возбудителей указанной болезни, позволяют считать, что эта связь объясняется защитной биологической ролью антимикробных веществ сока хлопчатника, являющихся, повидимому, одним из факторов иммунитета.

Полученные материалы, являясь только началом работы в этом направлении, дают основание для более углубленной разработки этого вопроса.

Всесоюзный научно-исследовательский
институт хлопководства
СоюзНИХИ
Ташкент

Получено 3.II.1954 г.

ЛИТЕРАТУРА

1. Березова Е. Ф. Взаимоотношения растений с микрофлорой почвы. Агробиология, 5, 1950.
2. Горленко М. В. Болезни растений и внешняя среда. Изд. Моск. об-ва испыт. природы, 1951.
3. Капустинский А. Ф. Иммунитет пигментированных растений и антибиотики. Успехи совр. биол., XXIX, вып. 3, 1950.
4. Крамаренко Л. Е. Бактерицидность клеточного сока, как один из факторов, обусловливающих сортовую устойчивость хлопчатника к гоммозу. Доклады ВАСХНИЛ, вып. 2, 1949.
5. Красильников Н. А. Актиномицеты-антагонисты и антибиотические вещества, Из-д. АН СССР, М., 1950.
6. Опарин А. И. и Купленская О. И. Иммунитет корня сахарной свеклы. Проблема иммунитета культурных растений. Изд. АН СССР, 1936.
7. Токин Б. П. Фитонциды, М., 1948.
8. Хетагурова Ф. В. Фитонциды, их роль в природе и значение для медицины. М.. 1952.
9. Irving G. W., Doolittle S. P. a. Fontaine T. D. Partial antibiotic spectrum of tomatin an antibiotic agent from the tomato plant. J. Bact., **52**, 601, 1946.

ПРИМЕНЕНИЕ ХЛОРНОЙ ИЗВЕСТИ В БОРЬБЕ С МУСКАРДИНОЙ ТУТОВОГО ШЕЛКОПРЯДА

Е. Т. Дикасова

Мускардина — вредоносное заболевание тутового шелкопряда. Однако практическое шелководство еще не располагает общедоступными рациональными средствами борьбы с ней. Поэтому вопрос о разработке эффективных мер борьбы с мускардиной является актуальным в шелководстве.

В литературе имеются указания об эффективном действии хлорной извести против целого ряда плесневых грибов [2]. Известно, что хлор оказывает подавляющее действие и на возбудителя мускардины, вместе с этим гусеницы тутового шелкопряда сравнительно хорошо выносят присутствие хлора [1].

Все вышеизложенное послужило основанием для исследований по применению хлорной извести в борьбе с мускардиной на выкормках тутового шелкопряда.

Необходимо было разработать прием, пользуясь которым можно выделять активный хлор в газообразном состоянии для текущей дезинфекции выкормок, пораженной мускардиной, без увлажнения помещений, в котором содержатся гусеницы.

Использованная в наших опытах хлорная известь содержала 25,63% активного хлора [1].

Для выяснения условий, обеспечивающих наиболее интенсивное и полное выделение хлора из хлорной извести, определенные навески ее смешивались с разным количеством соляной кислоты различной концентрации. При этом было установлено, что при прибавлении к 1 г хлорной извести 1,6 мл концентрированной соляной кислоты происходит выделение практически всего хлора, входящего в состав хлорной извести.

Далее опытным путем было установлено, что наиболее удобным для выделения хлора является 10%-ный раствор соляной кислоты.

Для установления концентрации хлора, убивающей споры Beauveria bassiana, проводились следующие опыты.

Кусочки батиста размером в 5 × 5 мм смачивались суспензией, содержащей около 30 000 спор в 1 мл, и в эксикаторах подвергались воздействию хлора, выделившегося из различных навесок хлорной извести, в течение одного часа, затем высевались на сусловый агар и проращивались при температуре 28°и влажность 80—85%. Данные испытаний представлены в табл. 1.

Последующие исследования по испытанию различных дозировок хлора на гусениц разных возрастов показали, что при смешивании 10 г хлорной извести с 160 мл 10%-ной соляной кислоты в объеме 1 м³ от выделившегося при этом количества хлора достигается снижение смертности гусениц от мускардины и не происходит практически ощутимого угнетающего действия его на гусениц всех возрастов (см. табл. 2). При этом для гусениц V возраста, среди которых полностью отсутствует гибель от желтухи и других заболеваний, тесно связанных с их ослабле-

---

1 При выполнении данной работы все химические анализы выполнялись Л. Т. Депешко, которому приношу свою благодарность.

Таблица 1

Прорастание спор Beauveria bassiana на сусловом агаре после воздействия на них хлора, выделенного из хлорной извести

Количество хлорной извести в объеме 10 дм³ в г	Добавлено 10%-ной HCl в мл	Рост Beauveria bassiana в пробирках									
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
0,5	0,80	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
0,2	0,320	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
0,1	1,160	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
0,050	0,08	—	+	+	—	+	+	+	—	+	+
0,010	0,016	—	+	+	+	+	+	+	+	+	+

Примечание. — отсутствие роста; + рост.

Таблица 2

Результат обработки гусениц хлором

Дозировка хлорной извести	Колич. гусениц	Из них количество полученных коконов в %		
		всего	нормальных	мускардинных
10 г + 160 мл 10-ной HCl на 1 м³	500	25,6	17,4	8,2
Контроль (необработанные)	500	6,8	3,2	3,6

нием, можно расходовать на 1 м³ помещения 15 г хлорной извести в смеси с 240 мл 10%-ной HCl. При использовании указанной дозировки хлорной извести для гусениц II возраста следует выдерживать их в присутствии хлора 40 минут. Гусеницы III, IV и V возрастов следует подвергать воздействию хлора в течение одного часа. При обработке выкормки смешивание хлорной извести с соляной кислотой производится в сосудах. После окончания выделения хлора сосуд с раствором выносился, а выделившимся активным хлором в газообразном состоянии обрабатывалась выкормка.

Описанный способ использования хлорной извести пригоден для помещений, могущих закрываться герметически.

С целью разработки техники использования хлорной извести для герметически незакрывающихся помещений испытывались различные дозировки применения ее в сухом виде.

Для этого в значительной степени пораженные мускардиной гусеницы располагались на этажерках, а хлорная известь рассыпалась равномерно на подстилочной бумаге, затем покрывалась сверху съемочной бумагой. Сверху накладывались гусеницы вместе со скармливаемым ими листом. Данные проведенного опыта изложены в табл. 3.

Из представленных данных видно, что при использовании 40 г хлорной извести получено наибольшее количество коконов.

Следует отметить, что наблюдения за партиями гусениц, в которых применялась хлорная известь путем рассыпания ее под подстилкой, показали, что через несколько дней после ее применения отмечается более энергичное поедание корма в сравнении с контролем.

Таблица 3

Результат применения хлорной извести, рассыпанной на бумаге под подстилкой

Количество используемой хлорной извести на 1 м² в г	Исходное количество гусениц	Количество полученных коконов в %	
		нормальных	мускардинных
80	300	0	3,5
60	300	20	8,0
40	300	45,3	2,7
20	300	23,3	2,0
Контроль (хлорная известь не применялась)	300	0	0

Нужно полагать, что это происходит в связи с тем, что тяжело больные гусеницы, которых в контрольной партии оказалось больше, не выходят на свежий корм для поедания его.

В процессе поглощения хлорной известью влаги из подстилки под гусеницами происходит выделение хлора, подавляющего развитие возбудителя мускардины на выкормке. После того как хлорная известь становилась мокрой, она теряла основное количество содержащегося в ней хлора, но испаряла поглощенную из подстилки влагу. Поэтому хлорную известь, рассыпанную под подстилкой, один раз в сутки заменяли новой порцией хлорной извести.

Известно, что гусеницы, тяжело больные мускардиной, не выползают на вновь положенный корм, а после гибели в основной массе скатываются на дно подстилки и вскоре там покрываются белым налетом спор, посредством которых происходит массовое заражение гусениц на выкормке. Наблюдения за партиями гусениц, под подстилкой которых находилась хлорная известь, показали, что появившиеся в них трупы (от ранее заразившихся гусениц), опустившиеся на дно подстилки, засыхают. Споры на этих гусеницах не образуются, в связи с чем значительно уменьшается возможность распространения мускардины на выкормке.

Исследования показали, что хлорную известь можно применять описанным способом на выкормках, пораженных мускардиной, начиная с первых дней второго возраста, что является наиболее ранним сроком появления мускардины.

Таким образом, в тех случаях, когда в помещении нельзя создать герметичность, хлорную известь можно применять на выкормке в сухом виде.

Последующие опыты показали, что слабые водные растворы хлорной извести убивают споры мускардины. В этих исследованиях кусочки батиста размером 5×5 мм, пропитанные суспензией, содержащей около 30 000 спор в 1 мл, подвергались воздействию различных водных растворов хлорной извести (табл. 4).

В связи с хорошо выраженным спорицидным действием водных растворов хлорной извести на споры Beauveria bassiana представлялось целесообразным испытать их для текущей дезинфекции выкормок, пораженных мускардиной. Для этого гусеницы, взятые из пораженной мускардиной выкормки, смачивались вместе с лежащей под ними подстилкой 2%-ным раствором хлорной извести. При этом было израсходовано 200 мл раствора на 0,5 м² площади, занимаемой гусеницами.

Данные испытаний водных растворов хлорной извести на гусеницах представлены в табл. 5.

Испытания различных водных растворов хлорной извести на гусеницах показали, что гусениц III, IV и V возрастов, среди которых нет ги-

Таблица 4

Прорастание спор Beauveria bassiana на сусловом агаре после воздействия на них водных растворов хлорной извести

Варианты опыта	Рост Beauveria bassiana в пробирках											
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
1%-ная хлорная известь												
В течение 1 минуты	+	+	+	+	+	+	—	+	+	+	+	+
„ „ 3 минут	—	—	+	—	—		—	—	+	—	—	—
„ „ 5 „	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
2%-ная хлорная известь												
В течение 1 минуты	—	—	—	—	—	—	—	—	—	+	—	—
„ „ 3 минут	—	—	—	—	—	—	—	—	—		—	—
„ „ 5 „	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—

Таблица 5

Варианты опыта	Исходное количество гусениц	оличество полученных коконов в %	
		нормальных	мускардинных
Гусеницы обрабатывались 2%-ной хлорной известью	375	24,27	2,93
Контроль (хлорная известь не применялась)	375	13,86	5,07

бели гусениц от других болезней, кроме мускардины, следует опрыскивать 2%-ным раствором хлорной извести. Гусениц II возраста и ослабленные выкормки в более старших возрастах, на которых, кроме мускардины, имеются другие заболевания, следует опрыскивать 1%-ным раствором хлорной извести.

Этот способ использования хлорной извести применим в сухую погоду и хорошо проветриваемых помещениях. При использовании водных растворов хлорной извести для обработки гусениц в среднем используется 1 л раствора на 2—2,5 м² площади, занимаемой гусеницами.

В выкормочный сезон 1953 г. хлорная известь применялась на пораженных мускардиной колхозных выкормках тутового шелкопряда Харьковской и Одесской областей. Опыт показал, что использование разработанных нами приемов применения хлорной извести на выкормках, пораженных мускардиной, приводит к прекращению смертности гусениц от мускардины и не оказывает угнетающего действия на гусениц.

Выводы

1. Испытание хлорной извести для борьбы с мускардиной тутового шелкопряда показало, что этот препарат может с успехом применяться различными способами на выкормках, пораженных мускардиной.

2. В герметически закрываемых помещениях выкормку можно обрабатывать активным хлором, выделяющимся из хлорной извести при смешивании ее с соляной кислотой. Для помещений, не закрывающихся

герметически, хлорную известь можно использовать путем рассыпания ее под подстилкой пораженных мускардиной партий гусениц. Оба эти способа могут с успехом применяться в сырую погоду, так как они не приводят к увлажнению выкормок. Для незакрываемых герметически помещений и в сухую погоду получены хорошие результаты при использовании малого количества хлорной извести в виде 1 или 2%-ного водного раствора, которым опрыскиваются гусеницы вместе с подстилкой.

3. Опыт применения хлорной извести в условиях колхозных выкормок показал, что обработка выкормок, пораженных мускардиной, хлорной известью приводит к прекращению смертности гусениц от этого заболевания и не оказывает на них угнетающего действия.

Украинская научно-исследовательская
станция шелководства
г. Мерефа

Получено 1.XII.1953 г.

ЛИТЕРАТУРА

1. Поярков Э. Ф. Тутовый шелкопряд. Биология и разведение, 1, Ташкент, 1929.
2. Рудаков Б. Н. Сравнительная оценка действия различных дезинфекционных средств на плесневые грибы. Природа, № 2, 1951.

О НЕКОТОРЫХ ДИСКУССИОННЫХ ВОПРОСАХ ПОЧВЕННОЙ МИКРОБИОЛОГИИ

Л. М. Доросинский

В статье Я. П. Худякова «Современное состояние и задачи микробиологии почвы», опубликованной в журнале «Микробиология» (1954), затронут целый ряд важных вопросов, кровно интересующих микробиологов, работающих в области сельского хозяйства. Критическое обсуждение этих вопросов принесет несомненную пользу, поможет сосредоточить усилия работников на решении узких мест почвенной микробиологии.

Одно из таких узких мест автор видит в том, что почвенная микробиология не располагает еще совершенной методикой, которая позволила бы с большей степенью достоверности познать развитие и динамику микробиологических процессов в естественной среде обитания микроорганизмов в почве. Обращая внимание микробиологов на необходимость совершенствования и разработки новых методик почвенных микробиологических исследований, Я. П. Худяков в то же время излишне много места уделяет рассуждениям о том, что нельзя результаты исследований, полученные в чистых культурах, безоговорочно переносить на почву. Он настойчиво и многократно фиксирует наше внимание на этом, казалось бы, ясном положении. Пространные рассуждения по этому вопросу излишни и, кроме того, могут создать неверное представление о том, что большинство советских микробиологов весьма примитивно понимает законы развития микроорганизмов в почве и ставит знак тождества между поведением микроорганизмов в чистой культуре и почве.

Я. П. Худяков пишет: «Представление о микроорганизме в чистой культуре, без поправок, переносится на почву. Это теоретически недопустимо, практически вредно. Ничто так не вредит дальнейшему развитию почвенной микробиологии, как перенесение закономерностей существования изолированного в чистой культуре микроорганизма на почву, гетерогенную в физическом, химическом и биологическом отношениях со сложными межвидовыми отношениями микрофлоры».

Верно, что нельзя переносить без поправок данные о поведении микроорганизмов в чистой культуре на почву. Но, кроме Худякова, это понимает большинство микробиологов, которые ясно отдают себе отчет в том, что не только развитие, но и функциональная деятельность микроорганизмов в условиях почвы зачастую иные, чем в условиях чистой культуры на искусственных питательных средах.

Вопрос этот, как известно, достаточно хорошо был освещен С. Н. Виноградским еще в двадцатых годах при разработке положений экологической микробиологии. Ряд статей, посвященных экологической микробиологии, уже в недавнее время был опубликован Селибером. Работы экологического направления по почвенной микробиологии выполнены Мишустиным. Новые пути в изучении почвенной микробиологии развивает Лазарев. Во всех этих работах учитываются те общие положения, о которых говорит Худяков. И дело вовсе не в том, чтобы многократно напоминать о них, главное заключается в установлении принципиального подхода к изучению микробиологических процессов, происходя-

щих в почве. Несмотря на общее экологическое направление, принципиальные подходы к изучению почвенной микрофлоры могут быть разными, и от того, что лежит в основе такого изучения, зависит, насколько оно соответствует истинному положению вещей. От этого в конце концов зависит, хороша или плоха та или иная методика. Вот об этом главном и надо было сказать автору.

Новым принципиальным подходом к изучению микрофлоры почвы являются положения, развиваемые Лазаревым и его сотрудниками. В основе этого подхода лежит изучение не отдельных видов микроорганизмов, а естественных их сообществ, развитие и деградация которых обусловлены различными стадиями процессов минерализации — синтеза органического вещества. Лазарев выделяет четыре основных сообщества микроорганизмов, или, как он их называет, четыре основных типа систем организмы — среда. Развитие микроорганизмов в почве, биохимические процессы, вызываемые ими, взаимоотношения между отдельными их видами могут быть правильно поняты лишь в условиях изучения таких микробиологических сообществ, развивающихся в конкретных условиях почвы. Такой подход к изучению почвенной микрофлоры имеет и свой метод, который подробно описан в статье Лазарева «Экологическая микробиология и изучение почвенного плодородия» (1949). Положения, развиваемые Лазаревым, находятся в соответствии с указаниями В. Р. Вильямса, который в 1914 г. писал: «В этом дальнейшем изучении биотических процессов, определяющих своей наличностью самое существование почвы, главное внимание, однако, должно быть направлено не на изучение отдельных видов организмов и не на изучение морфологии их, а на изучение совокупных требований целых низших растительных сообществ, объединяющихся в однородные группы общностью требований, предъявляемых ими к окружающей их среде, и общностью воздействия их на ту же среду» [1].

Признавая всю ценность положений, развиваемых Лазаревым, нам хотелось все же указать, что если главное внимание, совершенно правильно, должно быть уделено изучению деятельности в почве микробиологических сообществ в целом, то некоторая доля внимания должна быть уделена и более детальному изучению функций отдельных видов микроорганизмов, составляющих это сообщество. Это тем более важно, что, как известно, один и тот же вид микроорганизма может входить как в одно, так и в другое сообщество. Каковы же его функции в одном и другом сообществе? Надо полагать, что и эти вопросы получат свое разрешение в работах Лазарева.

Правильно указывается в статье Худякова как на один из существенных недостатков в нашей работе,— на недостаточное внимание, уделяемое общетеоретическим вопросам, связанным с изучением бактериальных удобрений. Явно недостаточное место занимают работы по изучению взаимоотношений используемых бактерий с высшим растением в условиях почвы. Исследования в этом направлении помогли бы нам лучше понять сущность действия бактериальных удобрений, а следовательно, и повысить их эффективность. Однако и то, что мы знаем по сущности действия бактериальных удобрений, в частности по сущности действия азотобактерина, не дает нам основания ставить вопрос так, как ставит его Худяков, «или — или». Или увеличивать выпуск азотобактерина и сократить производство азотных минеральных удобрений, или расширять производство минеральных азотистых удобрений с одновременным использованием азотобактерина (автор имеет в виду, что последний случай возможен при условии, что азотобактер действует только как стимулятор роста растений, благодаря продуцированию ростовых веществ).

[1] Цитировано по статье Ф. Ю. Гельцер (1949).

Такое противопоставление минеральных удобрений бактериальным совершенно неправильно. Имеется много работ, свидетельствующих о том, что азотобактер, усваивая азот воздуха, обогащает им почву. Есть и работы, показывающие, что азотобактер способен продуцировать ростовые вещества, стимулирующие рост и развитие растений. Вполне вероятно, что развитие азотобактера в почве стимулирует развитие других микроорганизмов (целлюлозных, нитрификаторов и других). Исследования Менкиной, особенно ее последние работы, показывают, что полезное действие фосфоробактерина на черноземных почвах объясняется не только увеличением подвижного фосфора в почве, но и усилением нитрификационной способности почвы. Очевидно, при разрушении органических соединений фосфора отщепляется аммиак, используемый нитрификаторами. Это обстоятельство было отмечено Менкиной для черноземных почв в условиях достаточного увлажнения.

Действие организма многогранно, нельзя подходить к нему с той же меркой, что и к механизму: или азотобактер фиксирует азот и тогда долой минеральные азотные удобрения, или он образует ростовые вещества, тогда будем расширять производство минеральных удобрений с одновременным использованием азотобактерина.

Нужно не заменять одно удобрение другим, а найти условия их правильного сочетания. Анализ большого количества производственных опытов показывает, что в ряде случаев небольшие дозы азотных минеральных удобрений способствуют лучшему действию бактериальных удобрений, ибо пока микробиологические процессы, которых мы ожидаем и которым способствуем, внося бактерии в почву и создавая им определенные условия, достигнут известного развития, растения нуждаются в азотной подкормке. Наконец, разнообразие почв, климатических и агротехнических условий, различные культуры, высеваемые на громадной территории нашей страны, дают основание полагать, что производство бактериальных удобрений не может быть поставлено в зависимость от производства минеральных удобрений и наоборот. Поэтому важной задачей дальнейших исследований должно явиться изучение эффективности бактериальных удобрений в общей системе удобрений, в сочетании с органическим и минеральным удобрениями в зависимости от почвенной разности и растения.

Несколько более подробно хотелось бы остановиться на микрофлоре ризосферы и ее специфичности.

Влияние различных растений на накопление в ризосфере определенных видов микроорганизмов отмечено многими авторами. К ризосферной микрофлоре относят разнообразные микроорганизмы: флюоресцирующие типа Pseudomonas, бактерии типа Macerans, Achromobacter, денитрифицирующие, микобактерии, бактерии типа Radiobacter и другие. В некоторых работах ризосферные бактерии делят по их способности расти на различных средах: бактерии, растущие на МПА, на среде с тирозином и т. п. Количество и видовой состав микрофлоры, которую относят к ризосферной,— огромны. Появляющиеся новые работы дают дополнительный материал, причем в связи с тем, что нередко методика определения и изучения ризосферных микроорганизмов в этих работах неодинакова, одни и те же микроорганизмы могут быть признаны ризосферными и неризосферными, специфичными для определенного растения и не специфичными для этого растения (не во всех работах в должной мере учитывается влияние почвенных условий, которые может внести существенные коррективы в указанные выше взаимоотношения). Возникает вопрос: какие же микроорганизмы следует отнести к ризосферным и можно ли вообще провести строгое разграничение между ризосферной микрофлорой и просто почвенной микрофлорой? В этой связи уместно привести результаты вегетационного опыта, проведенного нами совместно с Лазаревым. Овес выращивался на

двух почвах, различных по своей характеристике. Одна из них - - дерново-подзолистая, легкосуглинистая, характеризовавшаяся весьма слабым развитием микрофлоры переработки перегноя и общей низкой микробиологической активностью. Перегной этой почвы в связи со слабым развитием микрофлоры его переработки содержал довольно значительные количества белковой его части. В естественных условиях без внесения удобрений на этой почве получались весьма скудные урожаи.

Вторая почва была взята с резко противоположными признаками своей микробиологической характеристики. В этой почве при хорошем развитии микрофлоры переработки перегноя сам перегной оказывается сильно обедненным протеиновой частью, условия корневого питания злакового растения на такой почве резко лимитируются недостаточностью снабжения растений азотистой пищей.

Овес выращивался на каждой из этих почв в отдельности и в некоторых вариантах таким образом, что часть его корневой системы развивалась в одной почве, а часть в другой. Рост овса на каждой из этих почв в отдельности был плохим по вышеуказанным причинам. При выращивании овса по мере развития его корневой системы как в той, так и в другой почве рост растений резко улучшался. Очевидно, что хорошие условия корневого питания растений обеспечивались характерными различиями этих двух почв. При снятии опыта (до выбрасывания метелки) был сделан микробиологический анализ: парующей почвы, почвы из-под растений и корней растений.

Корни предварительно отмывались в проточной воде и затем 3—4 раза в стерильной воде. Данные анализа, приведенные в таблице, показывают резкое различие микрофлоры как в почве, так и на корнях растений в зависимости от почвенной разности. Этот факт лишний раз подтверждает то обстоятельство, что формирование ризосферной микрофлоры зависит не только от специфического влияния самого растения, но и от особенностей почвы.

Таблица 1

Влияние почвенной разности на микрофлору корневой системы растений

(В тысячах на 1 г)

Варианты опыта	Гнилостные на МПА	Масляно-кислые	Аэробные целлюлозные	Нитрификаторы	Микроорганизмы, растущие на гуматной среде
Среднеподзолистая слабоокультуренная почва без растения .	280	50	<0,1	<0,1	20
Та же почва из-под растений . .	980	500	0,3	<0,1	24
Корни растений на той же почве	1350	50	<0,1	<0,1	100
Перегнойно-карбонатная почва без растений	4400	1000	1,0	50	1050
Та же почва из-под растений . .	2030	1000	2,0	50	350
Корни растений на той же почве	2560	50	50	20	1800

Данные таблицы свидетельствуют и о том, что в самом непосредственном контакте с корнями растений, т. е. в составе микрофлоры ризосферы, развивается сообщество микроорганизмов, связанное с переработкой перегноя и имеющее важное значение для корневого питания растений. Обращает на себя внимание факт нахождения на корнях овса в довольно значительном количестве нитрифицирующих бактерий, которые, каза-

лось бы, как хемотрофы не должны находиться в составе ризосферных микроорганизмов. Развитие в непосредственной близости к корням и на самих корнях разнообразной микрофлоры, минерализующей органические вещества, накапливающиеся в корневой системе растений, создает, очевидно, условия для жизнедеятельности нитрификаторов.

О нахождении нитрификаторов в составе ризосферной микрофлоры говорит в своей статье и Худяков.

Все вышесказанное свидетельствует о том, что вопрос о составе ризосферной микрофлоры, ее специфике должен быть уточнен. Наконец, следует указать, что почти вся имеющаяся литература по ризосферной микрофлоре посвящена выяснению видового ее состава и специфичности по отношению к отдельным растениям. Но у нас почти нет работ, выясняющих роль ризосферной микрофлоры. Всеми признается, что эта микрофлора не может не иметь существенного значения в корневом питании растений. Однако вопрос этот является еще крайне неизученным. Недавно опубликована интересная статья Шевловского (1954), доказывающая участие микроорганизмов ризосферы в снабжении растений витаминами. Если мы хотим расширить наши возможности управления ризосферной микрофлорой в целях повышения урожаев, необходимо усилить работы по выяснению ее роли в питании растений.

К вопросу о специфичности микрофлоры тесно примыкает вопрос о специфичности азотобактера.

В последние годы ряд авторов указывают на необходимость изучения и использования специфических штаммов азотобактера, приспособленных к развитию и жизнедеятельности в ризосфере отдельных сельскохозяйственных растений. Как отмечают эти авторы, приживаемость и развитие в ризосфере лучше у специфического для данного растения штамма азотобактера, чем у неспецифического. Однако в работе со специфическими[2] штаммами допускаются серьезные ошибки, основной из которых является недооценка влияния почвенных условий на взаимоотношения высшего растения с азотобактером, а между тем почвенные условия нередко определяют приживаемость азотобактера в ризосфере растений.

В литературе имеется много данных, подтверждающих это положение. Сошлемся только на некоторые из них. Красильников (1945) по отношению к азотобактеру делит растения на 3 группы, из которых одна способствует накоплению азотобактера в ризосфере (люцерна, донник и др.), другая группа растений не стимулирует, но и не угнетает развития азотобактера (ячмень, овес и др.) и, наконец, третья группа растений подавляет развитие азотобактера (пшеница, кукуруза и др.). Вместе с тем Красильников подчеркивает значение почвы для размножения азотобактера в корневой системе. Например, азотобактер, не обнаруживаемый в ризосфере пшеницы и льна на подзолистых почвах, был найден в большем или меньшем количестве на сероземах и каштановых почвах. В опытах Гебгардт (1952) озимая пшеница, кукуруза, капуста сильно стимулировали развитие азотобактера на луговом черноземе, эти же растения, за исключением кукурузы, не оказывали никакого действия на азотобактер на слабоподзолистой почве. Интересно отметить, что люцерна как на слабоподзолистой почве, так и на луговом черноземе угнетала развитие азотобактера, а в опытах Квасникова и Петрушенко (1951) и Красильникова на сероземе она положительным образом влияла на азотобактер.

В наших опытах, проведенных совместно с Ламповщиковым на среднеоподзоленной легкосуглинистой почве, в ризосфере картофеля азотобактер не обнаруживался, внесение азотобактерина почти не меняло

[2] Считаем необходимым оговориться, что специфическими мы их называем не потому, что убеждены в их специфичности, а потому, что этот термин имеет хождение в литературе.

картины; при местном внесении компоста с азотобактерином количество азотобактера равнялось 1500 клеткам на 1 г почвы.

Положительное влияние извести на приживаемость азотобактера на корнях растений отмечают и другие авторы. Приведенных факторов достаточно для того, чтобы придти к выводу, что, помимо растения, на приживаемость азотобактера в рифосфере большое влияние оказывают и почвенные условия.

Недооценка почвенных условий в изучении специфических рас азотобактера объясняется тем, что, по мнению некоторых авторов (Петренко), азотобактер находится с высшим растением в тесной симбиотической связи. Если это так, то действительно главным и основным для развития азотобактера должно быть растение, а почва должна играть при этом незначительную, опосредственную роль. Однако мы считаем, что нет доказательств справедливости таких утверждений.

Понятие симбиоза как определенного взаимоотношения двух организмов, из которых каждый получает определенную выгоду от симбиотического существования, нельзя слишком широко толковать и распространять на целый ряд случаев, когда организмы приходят друг с другом в те или иные взаимоотношения, определяющиеся, помимо этого, целым рядом других условий. Во всяком случае, такое расширенное понятие симбиоза сделало бы его почти беспредметным.

Явными симбионтами высших растений являются клубеньковые бактерии, внедряющиеся и развивающиеся в корнях бобовых растений; микоризные грибы, проникающие в корни древесных пород.

Необходимо отметить также, что в зоне развития корней не только азотобактер, а и целый ряд других микроорганизмов значительно увеличивает свою численность, что могло бы также дать повод считать и их в симбиотических отношениях с растением. Лучшее развитие азотобактера в зоне корней объясняется изменением почвенных условий под развивающимся растением, в частности связанных с потреблением растения азотистых веществ почвы, что обуславливает известную убыль этих веществ и создает лучшие условия развития азотфиксирующих микроорганизмов. Лучшие условия создаются для азотобактера и наличием в ризосфере корневых выделений.

Другим недостатком в работе со специфическими штаммами азотобактера является то обстоятельство, что в большинстве полевых и вегетационных опытов специфический штамм азотобактера к одному растению не проверялся в том же опыте на другом растении, а между тем такое сравнение могло бы дать значительно больше, чем неоднократное повторение опыта с одним и тем же растением.

Трудно предположить также, что одно простое выделение азотобактера с корней пшеницы, картофеля или другого растения дает нам право считать, что выделенный азотобактер приспособлен к существованию в ризосфере пшеницы или картофеля и только на эти растения он окажет благоприятное воздействие. В действительности нередко бывает так, что «пшеничный» штамм, если это активный азотфиксатор, дает хорошие результаты, будучи применен под овес или ячмень и другие растения. Очевидно, для получения стойких специфических рас азотобактера необходимо применять специальные методы их воспитания.

Наконец, необходимо сказать, что результаты имеющихся опытов по сравнительному испытанию эффективности специфических штаммов азотобактера противоречивы и не дают оснований для вывода об их преимуществе по сравнению с неспецифическими. Так, производственное испытание эффективности специфических штаммов, проведенное в 1953 г. восемью госселекстанциями, показало, что из 13 опытов только в пяти явное преимущество было на стороне специфического азотобактерина, а остальные 8 опытов свидетельствовали в пользу азотобактерина, изготовленного на местных активных штаммах азотобактера.

Исследования по выяснению специфичности азотобактера для каждого вида растений должны быть продолжены. Необходимо накопить достаточное количество материала, который позволил бы правильно решить этот вопрос столь важный для производства и эффективного применения азотобактерина.

Всесоюзный научно-исследовательский институт сельскохозяйственной микробиологии
Ленинград

Получено 12.VII.1954 г.

ЛИТЕРАТУРА

1. Гебгардт А. Г. Влияние культур полевого севооборота на размножение азотобактера в почве. Научные записки Львовского гос. университета имени Ивана Франко. Серия биол., т. XX, вып. 6, стр. 36—46, 1952.
2. Гельцер Ф. Ю. Развитие взглядов академика В. Р. Вильямса на перегнойные вещества почвы. Советская агрономия, II, 64, 1949.
3. Квасников Е. И. и Петрушенко О. П. Азотобактер в поливных почвах Узбекистана, при травопольной системе севооборотов. Доклады АН УзССР, № 5, стр. 35, 1951.
4. Красильников Н. А. Микробиологические основы бактериальных удобрений. Изд-во АН СССР, 1945.
5. Лазарев Н. М. Экологическая микробиология и изучение почвенного плодородия. Труды Всес. н.-и. ин-та с.-х. микробиологии за 1941—1945 гг., вып. I, стр. 5, 1949.
6. Мишустин Е. Н. Эколого-географическая изменчивость почвенных бактерий. Изд. АН СССР 1947.
7. Петренко Г. Я. О специфических и местных расах клубеньковых бактерий и азотобактера. Ст. «Роль микроорганизмов в питании растений» Сельхозгиз, стр. 84, 1953.
8. Селибер Г. Л. Задачи, принципы и методы экологической микробиологии. Журн. общей биол., VI, 260, 1945.
9. Худяков Я. П. Современное состояние и задачи микробиологии почвы. Микробиология, т. XXIII, вып. 3, стр. 331, 1954.
10. Шевловский Г. М. Участие микроорганизмов ризосферы в снабжении растений гетеротрофами. Микробиология XXII, 497, 1953.

О ТАК НАЗЫВАЕМЫХ L-ФОРМАХ БАКТЕРИЙ

(Обзор)

М. А. Пешков

Введение

За последние годы внимание микробиологов оказалось вновь привлеченным к вопросам полиморфизма бактерий, который нашел свое новое выражение в открытии у них так называемых L-форм.

Эти своеобразные варианты морфологически представляют собой или крупные шары, которые имеют размеры эритроцита, или более мелкие микроформы, которые, благодаря своим небольшим размерам, не превышающим часто 200—150 мμ, проходят через бактериальные фильтры.

L-варианты бактерий либо возвращаются в бациллярное состояние, либо полностью утрачивают эту способность.

Как возникло название L-форм бактерий?

В 1935 г. Клинебергер (Klieneberger) обозначила условно как L_1 (L — первая буква названия Листеровского института, где была выполнена эта работа) выделенный ею морфологический вариант Streptobacillus moniliformis; последующие же сходные варианты других микробов получили обозначения L_2 — L_7.

Затем Динс (Dienes, 1951) применил термин «L-форма» для обозначения соответственных вариантов всех бактерий, после чего эта терминология стала общеупотребительной.

В результате многочисленных исследований, посвященных полиморфизму бактерий (см. сводки: Имшенецкий, 1940; Пешков, 1940, 1948), к началу 1900-х годов в исследовании полиморфизма бактерий создалось два основных направления: 1) изучение естественного полиморфизма, возникающего при обычных условиях культивирования бактерий; 2) изучение наведенного или насильственного полиморфизма, вызываемого воздействиями всевозможных физико-химических факторов.

Среди этих работ необходимо выделить классическое исследование Гамалеи (1894), впервые изучившего влияние хлористого лития на рост бактерий, вызывающего массовое образование крупных шаровидных и удлиненных форм, названных им гетероморфными.

Проявление гетероморфного роста бактерий, возникавшего под влиянием разнообразных факторов, издавна изучалось советскими учеными, обогатившими эту область знания многочисленными работами (Красильников, 1931, 1954; Кудрявцев, 1932; Коробкова, 1931, 1933; Луговая, 1935, 1948; Пешков, 1936, 1937, 1938, 1940, 1948; Имшенецкий, 1937, 1939, 1940; Штуцер, 1937; Чернобаев, 1938; Жолкевич, 1952, и др.).

Перечисленные авторы изучали как естественный, так и насильственный полиморфизм различных бактерий. В силу разных условий наблюдения и опыта одни приходили к выводу о полной нежизнеспособности «солевых» гетероморфных шарообразных особей [Клинебергер (Klieneberger, 1930); Имшенецкий, 1940; Солнцева, 1953], а другие описывали размножение и дальнейшее развитие таких «шаров», которые в конечном итоге давали бациллярное потомство (Пешков, 1940, 1948).

Поскольку не возникает сомнений в точности и техническом

совершенстве приведенных работ, следует думать, что изучались по существу разные явления, имевшие лишь общее морфологическое проявление.

В настоящее время стало известным, что большинство гигантских гетероморфных форм, образующихся под влиянием солей, нежизнеспособно, в то время как гигантские особи бактерий, возникшие в результате других химических воздействий, таких, как некоторые углеводы и антибиотики,— способны к дальнейшему развитию. Аналогично действие измененного температурного режима. При отступлении от оптимальной температуры также развиваются необычайно крупные гетероморфные особи, большинство которых способно к дальнейшему развитию. Поэтому авторы, изучавшие влияние солей, справедливо считали полученные гетероморфные шары нежизнеспособными, а исследователи, получавшие такие же шары под влиянием иных, более щадящих факторов, с тем же основанием приходили к диаметрально противоположным выводам и могли изучать не только гибель, но и дальнейшее развитие своих полиморфных объектов.

К микроорганизмам, привлекшим к себе особое внимание за последние годы как проявляющим резко выраженный естественный полиморфизм, следует отнести возбудителя перипнеймонии рогатого скота. Этот микроб имеет длительную и своеобразную историю. Еще Пастер подозревал, что повальное воспаление легких (ПВЛ) рогатого скота вызывается невидимым возбудителем. Лишь в 1898 г. Нокар с сотрудниками (Nocard, Roux, Borrel, Salimbeni, Dujardin-Beaumetz) получили культуру возбудителя на сывороточном бульоне, но увидеть его под микроскопом они не смогли, даже исследуя рост микроба на твердых средах, на которых развивались микроскопически видимые характерные колонии.

Вследствие способности проходить через бактериальные фильтры (Беркефельда) возбудитель перипнеймонии, несмотря на свою способность роста на искусственных питательных средах, в прошлом включался в группу фильтрующихся вирусов (Коляков, 1952).

Лишь в 1910 г. Бордэ (Bordet) смог исследовать морфологию этого фильтрующегося микроба на препаратах, окрашенных по Романовскому — Гимза. Возбудитель имел вид мелких гранул, тонких, подчас ветвистых нитей и шаров различного диаметра.

В то же время Боррель с сотрудниками (Borrel, Dujardin-Beaumetz, Jeantet, Jouan, 1910), применяя метод прижизненного исследования в темном поле, обнаружили присутствие ветвистых нитей, которые иногда как бы вырастали из шаров, что обусловило название микроба — Asterococcus.

Марциновский (1911), основываясь на изучении мазков из легких павших животных, где им были обнаружены коккоидные элементы, высказался в пользу бациллярной природы организма перипнеймонии — ОПП (pleuropneumonia organism — PPO), полагая, что нитевидные образования, наблюдавшиеся в бульонных культурах, представляют собой лишь инволюционные формы ОПП. Эрсков (Oerskov, 1942), наблюдая развитие ОПП на сывороточном агаре, обнаружил распад ветвистого мицелия на мелкие тельца, называемые элементарными, и образование ветвистого мицелия из последних. Тэрнер (Turner, 1935) наблюдал прорастание шаров культуры ОПП, причем один шар давал начало многим нитям.

Танг с сотрудниками (Tang, Wei, McWhirter, Edgar, 1935), исследуя развитие Asterococcus в темном поле, установил, что старые культуры ОПП преимущественно развиваются в виде шаров и так называемых колец, а свежевыделенные — дают мицелиальный и подчас анастомозирующий рост. Кольцевидные элементы в действительности представляют собой дисковидные двояковогнутые формы. В нитевидных формах наблюдалось энергичное движение протоплазмы.

Таким образом, в сороковых годах сложилось мнение о том, что характерной чертой развития ОПП является образование тончайшего мицелия, развивающегося из элементарных телец и вновь их производящего эндогенным путем.

К этому взгляду вначале примкнула Клинебергер (1934, 1936, 1938), но в дальнейшем ее внимание было перенесено исключительно на сферические элементы культуры ОПП. Позже Клинебергер и Смайлз (1942) приходят к выводу о том, что шары представляют собой существенную стадию в цикле развития организма, в то время как нитчатые формы возникают случайно.

Динс (Dienes, 1945) высказывает даже такую крайнюю точку зрения, что нитевидные формы ОПП, описывавшиеся старыми авторами, появляются как артефакт в результате растекания шаров при изготовлении препаратов-мазков.

К аналогичным выводам приходит и Либермейстер (Liebermeister, 1953), применивший для исследования ОПП в электронном микроскопе метод фиксации через агар, что дает возможность изучать разные участки одного и того же посева как в электронном, так и в световом микроскопе.

При этой методике исследования ему удалось увидеть, что как крупные особи микроба перипнеймонии, так и его элементарные тельца величиной 0,2—0,4 μ представляют собой пластические образования сферической формы, в то время как на препаратах, при изготовлении которых агаровый блок сдвинулся, возникали многоугольные, вытянутые и нитевидные формы, описывавшиеся другими авторами. Тем не менее данные о мицелиальных формах развития ОПП получили чрезвычайно убедительное подкрепление в работе Фрэйндта (Freundt, 1952), изучившего развитие ОПП (Micromyces Asterococcus peripneumoniae bovis) прижизненно, на плотной среде, в фазово-контрастном микроскопе, и на препаратах — в электронном микроскопе.

Фрэйндт подчеркивает, что его наблюдения над развитием ОПП на плотной среде совпадают с данными Эрскова (1942). Он также отмечает большое влияние на морфологию ОПП состава среды, различных сывороток и холестерина. Последний является важным фактором роста для ОПП [Идуард и Фицджеральд (Edward a. Fitzgerald, 1951)], в отсутствие которого наблюдается подавление мицелиального роста и развитие шаров.

Основные свойства организма перипнеймонии рогатого скота (ОПП)

При развитии культур Asterococcus mycoides (Micromyces peripneumoniae bovis) его элементарные тельца величиной около 0,2 μ на соответствующих средах разрастаются в тончайшие нитчатые ветвистые образования, внутри которых вначале видно движение протоплазмы, затем оно прекращается и нить образует эндогенно цепочку элементарных телец. Подчас наблюдается бурное змеевидное движение нитей микромицелия.

При других условиях культивирования (возможно, в отсутствие холестерина) элементарные тельца либо вытягиваются в короткие нити, размножающиеся делением, либо, разрастаясь, образуют довольно крупные шары, впоследствии фрагментирующиеся на отдельности различной формы и величины, вплоть до мельчайших сфероидов 0,4—0,15 μ, проходящих через фильтры, задерживающие бактерии.

ОПП растет на жидких средах, содержащих нативный белок или холестерин. На плотных питательных средах, в состав которых также входит белок в виде асцитической жидкости или кровяной сыворотки, микроб перипнеймонии образует нежные колонии в виде капелек росы. Характерной чертой этих колоний является присутствие более темного зернистого центра в форме пупочка, врастающего в среду, окруженного

периферической прозрачной зоной. Колонии достигают величины 2 мм; ОПП аэробен, но способен расти в атмосфере 10% CO_2.

Другим потогенным представителем этой своеобразной группы фильтрующихся микробов является возбудитель агалактии овец — Micromyces agalactiae, открытый в 1923 г. Бридрэ и Донатьеном (Bridré et Donatien, 1925) и изучавшийся у нас Фарзалиевым (1948).

Организмы типа перипнеймонии (ОТПП)

Дальнейшие исследования показали, что возбудитель перипнеймонии может считаться типовым представителем довольно обширной группы микроорганизмов, объединяемых общими морфологическими и культуральными чертами. Они известны в зарубежной литературе как PPLO (peripneumonia-like organisms), т. е. организмы типа перипнеймонии, и будут в дальнейшем в отличие от ОПП именоваться как ОТПП.

Шетензак (Shaettensack, 1934) выделил из внутренних органов и носовой слизи собак, больных чумой, ОТПП, названный им Asterococcus canis. Патогенные ОТПП высевались из организма различных грызунов; ОТПП выделялись также из гениталий мужчин и женщин при посеве отделяемого уретры и слизи с шейки матки на сывороточный агар. ОТПП также обнаруживались в ротовой полости человека.

Позже Лэйдло и Эльфорд (Laidlaw a. Elford, 1936) вырастили три штамма сапрофитных ОТПП из фильтратов сточных вод, посеянных на среду Фильдса. Сходные ОТПП выделялись Зейфертом (Seiffert, 1937) из почвы и навоза. В отличие от патогенных ОТПП, сапрофитные представители группы требуют для своего развития гораздо меньших количеств нативного белка в средах.

Клинебергер и Смайлз (Klieneberger a. Smiles, 1942) показали, что у многих представителей ОТПП животного происхождения, равно как и у лабораторных штаммов ОПП, наблюдается размножение культуры либо в виде элементарных (мелких) телец, либо последние разрастаются в крупные легко деформируемые шары, которые вновь распадаются на элементарные тельца.

Бóльшую устойчивость морфологии проявляют сапрофитные ОТПП, сохраняя сферическую форму даже на препаратах, приготовленных обычным способом.

На основании своих недавних исследований Либермейстер (1953), считаясь с убедительными данными Фрэйндта о мицелиальной стадии ОПП, предлагает упразднить термины ОТПП (PPLO) и именовать, по предложению Руска, эту группу микроорганизмов цистицетами, т. е. пузыревидными организмами.

Повидимому, все же мицелиальность, на которой так настаивают Фрейндт (1952) и другие, проявляется не только у патогенного Micromyces pleuropneumoniae bovis, но и у факультативно паразитических человеческих штаммов. Фрэйндт (1954), исследовавший 207 человеческих штаммов, выделенных из слизи половых органов женщин и мужчин, а также из ротовой полости, выяснил, что эти штаммы образуют три группы, отличающиеся морфологическими, культуральными и биохимическими признаками.

Вопрос о тонком строении и наиболее характерном способе размножения ОПП и ОТПП является предметом оживленной дискуссии и еще далек от своего завершения.

Streptobacillus moniliformis и его вариант L_1

Особый интерес возбудила находка ОТПП в бациллярных культурах Streptobacillus moniliformis. Этот микроб был выделен в 1925 г. Левадити, Николау и Пуэнклу (Levaditi, Nicolau et Poincloux, 1925) из орга-

низма человека. Затем Streptobacillus moniliformis был найден у больных в течение эпидемии лихорадки в Хаверхилле (США, Массачусетс), позже Маки, фан Руйен и Гилрой (Mackie, van Rooyen a. Gilroy, 1933) и Стрэнджуйэз (Strangeways, 1933) доказали, что Streptobacillus moniliformis, являясь сапрофитическим обитателем носоглотки крыс, крайне патогенен для мышей, вызывая у них инфекционный артрит. По некоторым данным, Streptobacillus moniliformis может передаваться человеку при укусе крысой. Из здоровых крыс Streptobacillus moniliformis [см. обзор Сабина (Sabin, 1941)] выделяется по методу Стрэнджуэйз (1933) прививкой соскоба слизистой носоглотки крыс белым мышам и последующим высевом крови сердца последних на среды с сывороткой. При этой методике культуры выделяются более чем в 50% случаев. Рост Streptobacillus moniliformis в сывороточном бульоне характеризуется образованием хлопьев, оседающих на дно пробирки. На сывороточном агаре вырастают маленькие колонии, поверхность которых усеяна крошечными капельками. Микроорганизм грамотрицателен и неподвижен. На препаратах видны изящные палочки, которые складываются в кучки. Особи снабжены четковидными вздутиями, определившими видовое название микроба.

При выращивании на хорионаллантоисе цыпленка Streptobacillus moniliformis скапливается преимущественно в синовиальной жидкости суставов и растет внутриклеточно, убивая эмбрион на четвертый день.

Клинебергер (Klieneberger, 1935), изучая штаммы Streptobacillus moniliformis, установила, что наряду с бациллярными особями в культурах присутствовали карликовые полиморфные элементы, которые располагались на поверхности цепочек стрептобацилла и проявляли полное морфологическое сходство с представителями ОТПП. Эти формы, которые Клинебергер рассматривала вначале в качестве симбионтов основной культуры, были ею обозначены условно как L_1.

Для отделения организма L_1 от Streptobacillus moniliformis капля культуры последнего размазывалась по поверхности сывороточного агара. В течение первых трех суток инкубации при 37° наряду с колониями Streptobacillus moniliformis вырастали более мелкие колонии L_1.

Как и колонии всех типичных ОТПП, они были снабжены темным «пупочком», окруженным светлой зоной. Центр колонии врастал в агар. Бациллярные особи в колониях L_1 полностью отсутствовали; последние состояли лишь из ветвистых нитей, гранулярных форм и легко деформируемых крупных шаров.

Применявшаяся среда готовилась следующим образом: к 1000 мл мясной воды из сердечной мышцы быка добавлялось 10 г пептона и 20 г агара; pH среды доводилось до 7,6—8,0. К полученному МПА добавлялось 5% дефибринированной крови. Среда доводилась до кипения, остужалась до 50°, и к ней доливалось 20% лошадиной сыворотки. Все перемешивалось, и среда разливалась по чашкам.

Кроме L_1, Клинебергер и другими авторами выделялись из грызунов другие ОТПП, обозначавшиеся буквой L, но получившие следующий порядковый номер до седьмого включительно.

Другие L-организмы различного происхождения

Клинебергер выделила ОТПП, обозначенный ею L_2 при посеве фильтрата смешанной культуры стрептобацилла, полученной из носоглотки морских свинок (фильтрация производилась через свечу Беркефельда).

Организм L_3 был выделен Клинебергер и Стиббен (Klieneberger a. Steabben, 1937) из бронхоэктазов старых крыс, а L_4 — из подкожных абсцессов и инфильтрированной подчелюстной железы крысы (Клинебергер, 1938). Полученный позже штамм L_7 [Финдэй с сотр. (Finday, McKenzie, McCallum a. Klieneberger, 1939)] оказался идентичным L_4.

У мышей были обнаружены нейротропные ОТПП, обозначенные L_5 и L_6. Организм L_5 вызывает особое заболевание (rolling disease — болезнь перекатывания), при которой пораженные животные начинают перекатываться с боку на бок.

ОТПП мышей разделяются на пять серологических типов A, B, C D, E (Сабин).

Как уже упоминалось, микроорганизм L_1, выделенный Клинебергер из старых и свежих штаммов Streptobacillus moniliformis, настолько резко отличался по своей морфологии от последнего, что, без натяжки, он был отнесен к ОТПП. В течение нескольких лет Клинебергер поддерживала и развивала гипотезу о двойственном характере культур Streptobacillus moniliformis, считая, что Streptobacillus moniliformis и L_1 представляли собой два самостоятельных микроорганизма, существующих в симбиозе в одной культуре.

Вопреки симбиотической гипотезе, работами других исследователей [Досон и Хобби (Dawson a. Hobby, 1939); Динс, 1939—1950; Эрсков, 1942, и др.] было доказано, что организм L_1 представляет собой вариант Streptobacillus moniliformis. Эта точка зрения в настоящее время является общепризнанной, так как сама Клинебергер (1949) отказалась от гипотезы симбиоза, примкнув к мнению большинства о видовой идентичности L_1 и Streptobacillus moniliformis, что и завершило многолетнюю дискуссию, расчистив дорогу для новых исследований в этой новой области.

L-формы других бактерий

С легкой руки Клинебергер, обозначившей первого представителя этого рода как L_1, подобные варианты бактерий, имитирующие морфологию ОТПП, получили название L культур.

Образуемые этими вариантами специфические колонии типа ОТПП приобрели наименование L-колоний, а процесс, в результате которого возникают L-культуры, был назван L-циклом развития бактерий [Динс и Вейнбергер (Dienes a. Weinberger, 1951)]. Следовательно, L_1-организм Клинебергер является L-культурой Streptobacillus moniliformis.

Вопрос об истинных взаимоотношениях ОПП, ОТПП и L-форм бактерий является предметом оживленной дискуссии.

Динс (1951) и Тюлян (Tulasne, 1953), основываясь на том факте, что типичные ОТПП, выделенные из организма человека (гениталии, ротовая полость), в дальнейшем начинали образовывать бациллярные формы и, следовательно, оказывались нестабилизированными L-культурами, полагают, что ОПП (Micromyces peripneumoniae bovis) не является самостоятельным организмом, представляя собой стабилизированную L-культуру, бациллярная форма которой неизвестна или утрачена. Против этой точки зрения энергично возражают Эрсков (1947) и Фрэйндт (1950, 1952, 1954) на том основании, что у L-форм отсутствует микромицелиальная стадия, а шары в культурах ОПП являются якобы инволюционными формами.

Вероятнее всего, что ОТПП и L-формы представляют собой своеобразные варианты бактерий, в то время как истинная природа ОПП и его идентичность с ОТПП и L-формами пока еще не решена.

Техника изучения L-форм

В связи с легкой ранимостью форменных элементов L-культур методы изготовления мазков или отпечатков мало пригодны, так как такие препараты не дают возможности судить об истинной форме и взаимоотношениях особей в культуре.

Поскольку L-культуры обычно не растут на жидких средах, их образование из бациллярных форм и последующее развитие нельзя прослеживать по методу висячей капли.

Поэтому прижизненные наблюдения L-культур производятся в амплитудном (световом) или фазово-контрастном микроскопе в специальных микрокамерах (Пешков, 1948), гарантирующих нормальное развитие объектов. Наиболее надежные результаты получают, применяя серийную микрофотографию или цейтрафферную микрокиносъемку объектов [см. Пешков, 1940, 1948; Клинебергер-Нобель, 1951; Пульвертафт (Pulvertaft, 1953)].

Для получения окрашенных препаратов L-форм Динс (1939, 1945) предложил методику обработки L-культур непосредственно на агаре.

Для этого каплю раствора метиленовой сини или азура наносят на покровное стекло и дают ей высохнуть.

Таким «окрашенным» стеклом покрывают изучаемую микроколонию, которая вскоре целиком прокрашивается и делается доступной для изучения как при малых, так и при сильных увеличениях, включая и масляную иммерсию. Наилучшие результаты дает методика фиксации через агар, разработанная Куном (Kuhn, 1931) и применявшаяся Клинебергер (1934, 1950).

С засеянной чашки вырезается блок агара. Он помещается посевом вниз на покровное или предметное стекло, которое погружается в тот или иной фиксатор (Карнуа, Флемминг, Буэн, Шаудин). По окончании фиксирования, когда блок агара полностью помутнеет, он чаще всего сам отстает от отпечатка колонии микроорганизмов, приставшего к поверхности стекла. Если блок не отстает, его можно удалить осторожно вдвигая между ним и стеклом лезвие ланцета или бритвы. (Операцию надо проделывать в жидкости, так как иначе блок сдвинется и нарушит естественное расположение микроорганизмов в отпечатке). Биссет (Bisset, 1950) рекомендует для этой методики производить посевы на кровяном агаре, так как данная среда лучше всего прилипает своей поверхностью к стеклу, чем максимально снижается вероятность скольжения блока. Препарат-отпечаток может в дальнейшем обрабатываться, как гистологический срез,— влажным способом, окрашиваться и заключаться в бальзам или высушиваться после удаления блока агара, окрашиваться и изучаться, как бактериологический мазок, что также дает хорошие результаты.

Методика окраски мелких L-колоний на агаре под покровным стеклом оказалась более пригодной для обнаружения и изучения L-форм различных бактериальных культур.

Для окраски мазков и препаратов-отпечатков применяют метод Романовского — Гимза, метод Пешкова (1945) (Гимза — лихтгрюн), метод Пекарского — Робиноу (HCl — Гимза, см. Дюбо, 1948), метод Тюляна и Вандрели (Tulasne et Vendrely, 1950), предварительную обработку мазков рибонуклеазой, затем окраску по Гимза и, наконец, окраску по Фельгену.

Для исследования морфологии L-форм за последние годы также нашел себе применение электронный микроскоп. Смит, Мадд и Хиллиер (Smith, Mudd a. Hillier, 1948) изучали L-формы Bacteroides funduliformis, а Динс (1953, 1953a) исследовал L-формы Proteus и ОТПП, выделенные от человека. Смиту удалось убедиться в присутствии у L-форм более тонкой клеточной оболочки, чем у бактерии. Динс же у своих объектов не обнаружил на электроноптических фотографиях деталей, которые не были бы видимы у L-форм в световом микроскопе. Аналогичные данные приводят Тюлян и Брингман (Tulasne et Bringmann, 1952).

Согласно Динсу и Вейнбергеру (1951), исследование живых объектов по методу фазовых контрастов дает хорошие результаты при изучении некоторых процессов роста L-форм, но неспособно заменить методику окрашивания культур на агаре.

В большинстве случаев L-культуры не поддаются пересеву посредством петли. Клинебергер (1935) рекомендует пересевать L-культуры вместе с агаром, на котором они растут. Для этого вырезают блок агара с колониями и переносят его, перевернув на свежую питательную среду, размазывая рост по ее поверхности. Блок агара удалять не рекомендуется, так как новый рост часто возникает под блоком. При пересеве петлей,

если он удается, следует коснуться ею L-колонии и произвести посев штрихом, не отрывая петли от среды.

Основные свойства, особенности строения и развития наиболее изученных L-форм бактерий

1. Характер роста на средах, потребность в нативном белке

После открытия Клинебергер L-формы Streptobacillus moniliformis было потрачено много труда для выяснения основных свойств этого варианта, настолько утратившего свойства породившей его бациллярной культуры, что L_1 вначале был принят за ОТПП. Изучая культуру Streptobacillus moniliformis, Динс (1939, 1939а, 1947в) установил, что сферические формы первично возникали в результате разрастания бациллярных особей.

При пересеве шаров на свежую питательную среду они еще более увеличиваются в размерах, приобретают неправильные очертания и начинают отпочковывать от своей поверхности карликовые формы, что и служит отправной точкой перехода культуры в L-состоянии. Отделяющиеся гранулярные или карликовые формы врастают в толщу среды. Не все шары способны производить карликовые формы, некоторые из них дают начало только бациллярным особям, которые якобы зарождаются внутри шаров. Динс (1939) также наблюдал при выращивании L_1-форм в бульоне их реверсию в бациллярное состояние.

Предположение Динса, не раз им высказываемое, о развитии бациллярных форм Streptobacillus moniliformis внутри шаров, нуждается в весьма тщательной проверке, так как не исключена возможность, что внутрь пустой оболочки лизированного шара попадала извне бациллярная особь и давала начало бациллярной микроколонии в полости отмершей гетероморфной особи.

Идентичность культур Streptobacillus moniliformis и L_1 была также доказана серологически Досоном и Хобби (Dawson a. Hobby, 1939) при помощи реакции Кастелляни.

Изучение условий развития и метаболизма Streptobacillus moniliformis и L_1 показало, что, в отличие от Streptobacillus moniliformis, его L-формы не способны расти на средах, не содержащих нативный белок. Характер метаболизма L_1, хотя и слабее выраженный (ферментация углеводов), совпадал с таковым Streptobacillus moniliformis. Способность Streptobacillus moniliformis образовывать L-формы зависит от степени полиморфизма исходной культуры.

2. Устойчивость L-форм к пенициллину; добавление пенициллина к среде как метод произвольного получения L-форм бактерий

В ряде случаев (Динс, 1951) было установлено, что мало жизнеспособные бациллярные культуры Streptobacillus moniliformis, переходя в L-формы, приобретали большую устойчивость к вредным внешним воздействиям. Особенного внимания заслуживает отношение L_1 к пенициллину (Пирс, Pierce, 1942). В то время как рост бациллярной формы Streptobacillus moniliformis приостанавливается уже в присутствии 0,02 ед./мл пенициллина, его L-вариант растет даже при огромной дозе пенициллина, равной 10 000 ед./мл. Оказалось также, что L-культуры, возникшие спонтанно, без пенициллина, были не менее устойчивыми, чем штаммы, развивавшиеся на средах с антибиотиком. Также выяснено, что L_1 более устойчив и к действию глицина, а также карбоксиметоксиламина (Динс, Вейнбергер и Мадофф, Dienes, Weinberger a. Madoff, 1950).

Устойчивость L-форм Streptobacillus moniliformis к пенициллину значительно облегчила методику их выделения.

Вслед за Streptobacillus moniliformis были подробно изучены L-формы Bacteroides или Fusiformis necrophorus (Динс, 1941, 1945, 1948b; Клинебергер, 1947), которые оказались морфологически подобными L_1. Как бациллярные, так и L-формы Fusiformis развиваются только в условиях анаэробиоза, причем, как и в случае L_1, L-формы Fusiformis требуют присутствия в среде кровяной сыворотки. Образованию L-форм предшествовал переход бациллярных форм в гетероморфные шары. Превращение шаров в L-формы и бациллярные особи было прослежено и заснято прижизненно Динсом с Смитом (Dienes a. Smith, 1944).

Легко утрачиваемый полиморфизм восстанавливался при проведении культуры через L-формы (Динс, 1948) и после их реверсии в бациллярное состояние.

Введение пенициллина в состав питательной среды оказалось хорошим методом для выделения L-форм многих бактерий и, в частности, Haemophilus influenzae (Динс, 1947), а также Bacteroides (Fusiformis) (Динс, 1948). Роль пенициллина далеко не ограничивается подавлением роста бациллярных форм; повидимому, его присутствие непосредственно влияет на бактерии, побуждая образование L-форм, которые, вероятно, и не возникали бы без этого антибиотика.

L-формы Fusiformis, полученные под влиянием пенициллина, не обратимы при культивировании на плотной среде и растут одинаково хорошо как в присутствии пенициллина, так и без него.

Но пассирование L-форм Fusiformis через бульон с тиогликолатом давало реверсию к бациллярным формам, проявлявшим резкий полиморфизм.

Как и в опытах Динса, оказалось, что способность образовывать L-формы утрачивалась после ряда пересевов свежевыделенной культуры. Обычные методы стабилизации L-форм не дали результата. Повидимому, образование L-форм в культурах Fusiformis является выражением нормального хода ее развития.

Особое место в исследованиях, касающихся L-форм бактерий, занимают работы, посвященные Proteus [Динс, 1946, 1946a, 1947a, 1948a, 1949a, 1953, 1953a; Тюлян (Tulasne, 1949, 1950, 1951, 1953); Тюлян и Брингман (Tulasne et Bringman, 1952); Тюлян и Минк (Tulasne et Minck, 1952); Тюлян, Вэндрели, Минк и Мюллер (Tulasne, Vendrely, Minck et Muller, 1950); Фрэйндт (Freundt, 1950); Зильберштейн (Silberstein, 1953)].

При выращивании Proteus на плотных средах из бациллярных особей вырастают полиэнергидные червеобразные формы роения, среди которых встречаются полиморфные и шарообразные элементы. Нуклеоиды бациллярных и удлиненных форм (Пешков, 1940, 1946, 1948) при образовании таких шаров исчезают, заменяясь губчатым ядерным веществом, выполняющим почти всю полость шара, на периферии которого остается сравнительно узкая кайма базофильной протоплазмы.

Применение пенициллина позволило регулярно добиваться перехода бациллярной культуры Proteus в L-формы.

Рост штаммов протея, выделенных из мочи и испражнений, обычно подавляется в присутствии 10 ед/мл пенициллина и полностью прекращается при увеличении концентрации пенициллина до 50 ед/мл. В бульоне с пенициллином бациллярные особи протея разрастаются в шары, которые остаются жизнеспособными в течение нескольких дней, но дальше не развиваются. Перенесенные на плотную среду, они дают начало либо бациллярным особям, либо L-формам. Как и у предыдущих объектов, развитие L-форм происходит лишь на специальных рыхлых средах, содержащих лошадиную сыворотку и большую дозу пенициллина (от сотен до тысяч единиц на 1 мл), причем через 2—3 дня образуются характерные L-колонии.

Заслуживают внимания данные Тюляна и Минка (Tulasne et Minck, 1952) о сходстве необычайной устойчивости ОПП и L-форм протея к пенициллину и большей чувствительности как ОПП, так и L-форм к стрептомицину. Большая устойчивость проявлялась к хлоромицетину.

Пульвертафт (1953) приводит интересную таблицу сравнительной устойчивости ОПП и L_1 (L-форма Streptobacillus moniliformis) к действию разных антибиотиков (табл. 1), причем, как и в опытах Тюляна с сотрудниками, ОПП и L-формы бактерий проявили колоссальную устойчивость к действию пенициллина, но легко убивались другими антибиотиками.

Таблица 1

Устойчивость L-форм к антибиотикам
(По Пульвертафту, 1953)

	Наименьшая концентрация, вызывающая				
	полную задержку развития			неполную задержку развития L_1 (L-форм, Streptobacillus moniliformis)	
	ОПП-Micromyces bovis		L_1		
	γ/мл		γ/мл	γ/мл	
Террамицин	0,062		0,125	0,125	
Хлоромицетин	0,156		12,5	1,25	
Ауреомицин	0,625		12,5	1,25	
Дигидрострептомицин-сульфат	1,25		1,25	...	
Стрептомицин хлоркальциевый комплекс	3,125		12,5	1,25	
	ед/мл	мг/мл		ед/мл	мг/мл
Пенициллин	50 000	30,3	Не удалось получить	100 000	60,6

Примечание: ... не испытывалось.

Для Proteus известно образование нескольких типов колоний, различие между которыми выявляется через 5—7 дней роста. Мелкие L-колонии были названы Динсом (1949а) 3А, а более крупные L-колонии получили обозначение 3В.

Вариант 3А растет только на рыхлом пенициллиновом агаре в присутствии кровяной сыворотки, в то время как колонии типа 3В развиваются как в присутствии сыворотки, так и без нее. На средах без пенициллина через 24 часа формы 3А превращаются в бациллярные. Ежедневными пересевами варианта 3А на сывороточном агаре, не содержащем пенициллина, можно весьма долго поддерживать L3А-формы без реверсии. При длительном выращивании варианта 3А на средах с пенициллином реверсия наступает с очень большим запозданием. Старые L-колонии типа 3А на средах с сывороткой и пенициллином мутны, плотны, врастают в агар и образуют часто сливной рост. Бациллярные формы в них отсутствуют. При пересевах неизменно развиваются типичные L-колонии с пупочком, врастающим в среду, и фестончатым прозрачным ободком, состоящим из шаров и гранулярных форм.

Крупные L-колонии варианта 3В развиваются интенсивнее в толще среды, растут на пенициллиновом агаре без сыворотки, но хуже, чем с ней. При пересеве L-варианта 3В на агар без пенициллина бациллярные формы образуются в течение нескольких часов. Рассев варианта 3В на рыхлый пенициллиновый агар с сывороткой дает рост колоний 3А и 3В. Динс затем показал (1953), что посев варианта 3В на жидкую среду с пенициллином по методике Тюляна с сотр. (1950) дает пышное развитие

L-роста в виде пловучей поверхностной пленки. Далеко не все штаммы протея способны давать пловучий L-вариант.

Для получения пловучей культуры Динс (1953) применял МПА, к которому перед застыванием добавлялся пенициллин из расчета 2000 ед/мл и культура Proteus 52. Зараженная среда разливалась по пробиркам и скашивалась. Через несколько дней, когда колонии 3В полностью развились, в пробирки добавляется МПБ с сывороткой и пенициллином в таком количестве, чтобы часть косого агара выступала над уровнем жидкости. Пловучая L-культура развивается лишь в некоторых пробирках (в 15—30% случаев).

Пловучий L-рост при образовании имеет вид тонкой пленочки, вскоре затягивающей поверхность среды. Пленка пересевается на колбы с жидкой средой (МПБ с пенициллином); пловучий рост быстро затягивает поверхность бульона. Бациллярные формы в пленке полностью отсутствуют.

Пловучие L3B-культуры оказались очень удобными для изучения морфологии L-форм в электронном микроскопе (Динс, 1953а). По своим физиологическим свойствам пловучий вариант отличается как от исходного бациллярного штамма, так и от L-вариантов 3А и 3В. В то время как бациллярный штамм растет на среде, содержащей соли аммония, глюкозу и никотиновую кислоту, пловучий вариант L3B более требователен и на подобной среде не развивается. Аналогично культурам 3В он хорошо растет в отсутствие сыворотки, без которой не наблюдается развития еще более требовательного варианта 3А. Пловучий вариант растет на стерильной моче. При рассеве пловучего L3B варианта на сывороточный агар развиваются колонии, более похожие на тип 3А. Главной особенностью пловучего варианта является утеря им способности возврата в бациллярное состояние в отсутствие пенициллина, в то время как варианты 3А и 3В без пенициллина неизменно переходят в бациллярную фазу. 3А и 3В культуры протея растут только на агаровых средах, но не развиваются на других плотных субстратах, подобных свернутой сыворотке или яйцу. Иногда удавалось наблюдать развитие L-форм в сывороточном бульоне, куда погружался кусочек стерильной ваты или целлофана, предварительно приведенный в контакт с L-колониями на агаре (Динс и Вейнбергер, 1951).

L-вариант 3А, подобно бациллярной культуре протея, ферментирует мочевину и проявляет некоторые пептонизирующие свойства. Все свежевыделенные штаммы протея, полученные из мочи и испражнений, дают обильный рост L колоний, причем разные штаммы образуют L-формы при различных концентрациях пенициллина (Фрэйндт, 1950). X штаммы протея, в том числе и X_{19}, обладают повышенной устойчивостью к пенициллину и хотя образуют гетероморфные формы на пенициллиновом агаре, не дают роста при пересевах.

При посеве фильтрата пловучей культуры (через свечу) обычных штаммов протея на среду с пенициллином развивались L-формы, а на простой агар — бациллярные формы протея.

Зильберштейн (1953) рекомендует для получения L-форм Proteus пользоваться свежевыделенными штаммами, полученными из мочи и гноя, которые засевают на среду следующего состава: мясная вода из сердца быка с добавлением 1,5% агара и 5% кипяченой и стерильно профильтрованной крови рогатого скота (среда Левинталя, 1921). К 100 мл расплавленной и остуженной до 50° среды, перед разливкой, добавляют 30 мл лошадиной сыворотки и от 10 до 10 000 ед. пенициллина на каждый миллилитр среды.

При заражении мышей L-культурой Proteus животные либо погибали от бациллярной инфекции, либо оставались здоровыми, хотя суспензия печени такой внешне здоровой мыши вызывала при внутрибрюшинном

введении другому животному инфекцию, обусловленную бациллярной формой протея.

Особый интерес представляет получение L-форм у Salmonella [Динс, 1948; Вейнбергер, Мадофф и Динс (Weinberger, Madoff, a. Dienes 1950)]. Как и в случае Proteus, применялся посев свежевыделенных штаммов представителей группы Salmonella на рыхлый агар с гемолизированной лошадиной сывороткой и пенициллином (Зильберштейн, 1953). Посевы выращивались при 37°, анаэробно. Как и при образовании L-форм протея, у Salmonella typhi-murium и у Salmonella enteritidis вырастали колонии типа 3А и 3В. Микроорганизмы из колоний 3В легко возвращаются в бациллярную форму, в то время как варианты 3А росли только на плотных средах, давали мелкие L-колонии и нацело утрачивали способность реверсии в бациллярную форму. Зильберштейн получал L-формы Salmonella typhi-murium, нанося несколько капель шестичасовой бульонной культуры на поверхность пенициллиново-сывороточного агара. Чашки инкубировались анаэробно при 36°. Вначале происходило энергичное образование гетероморфных форм, затем развивались L-колонии, которые вначале еще обладали способностью возврата к бациллярной форме. Дальнейшая адаптация проводилась при дозах пенициллина от 10—50—100 ед/мл. Через 1—2 недели возникала стабильная L-культура, которая выращивалась на сывороточном агаре как в присутствии пенициллина, так и без него. При выдерживании стабильной L-культуры в аэробных условиях она отмирала в течение 1—2 дней. L-культура Salmonella typhi-murium поддерживалась в анаэробных условиях в течение девяти месяцев и была использована в опытах на мышах.

Основные сведения о наиболее изученных L-формах некоторых бактерий приведены в табл. 2, 3.

Существуют данные, что Shigella sonnei (Вейнбергер, Мадофф и Динс, 1950), Escherichia coli (Динс, 1942), Минк (Minck, 1950), Haemophilus parainfluenzae (Динс, 1944), Neisseria gonorrhoae, Neisseria intracellularis (Динс, 1940) наблюдалось развитие L-колонии под влиянием пенициллина или спонтанно, но дальнейшие их пересевы еще не удались.

L-формы также получены из культур холерного вибриона (Минк, 1950, 1951, 1951а).

Кроме пенициллина, образование L-форм может стимулироваться накоплением продуктов обмена веществ в культуре [(Клинебергер, 1930); Зейферт (Seiffert, 1937)]; изменением pH [Ридд и Орр, (Reed a. Orr, 1923)], глицином (Динс, Вейнбергер и Мадофф, 1950), карбоксилметоксиламином [Фавур (Favour, 1948); Динс (1949)]; аминокислотами: *dl* — метионином или *l*-фенил-аланином [Динс и Замецник (Diens a. Zamecnick, 1952)], отсутствием одного из факторов роста. Поскольку фенол и стрептомицин не способствуют образованию гигантских форм, Тюлян (1953) полагает, что эти вещества не стимулируют образования L-форм, хотя Купрейчик (1953) получила под влиянием фенола переход желтой сарцины в фильтрующуюся стадию, вероятно связанную с образованием L-форм. Среди прочих агентов, способствующих образованию L-форм протея, следует назвать холод (Динс, 1946), лучи Рентгена (Тюлян, 1953), а для тифозной палочки — воздействие антителом в присутствии комплемента или бактериофагом (Динс, Вейнбергер и Мадофф, 1950).

3. Серологические свойства L-форм

Свойства L-вариантов изучались серологическими методами исследования (табл. 4), применявшимися в отношении Streptobacillus moniliformis (Клинебергер, 1938, 1940), а также некоторых Salmonella и Proteus (Динс, Вейнбергер и Мадофф, 1950; Вейнбергер, Мадофф и Динс, 1950).

Для изучения серологических особенностей L-форм (табл. 4) были приготовлены агглютинирующие сыворотки для трех штаммов протея и

Таблица 2

(по Динсу, 1951 с некоторыми дополнениями)

Сводка наблюдений над образованием L-вариантов у различных бактерий

(Наиболее изученные виды)

Вид бактерий, давший варианты	Условия возникновения вариантов	Тип L колоний	Требования к среде	Реверсия к бациллярной форме
Streptobacillus moniliformis	Без специального воздействия или под влиянием пенициллина, а также карбоксилметоксиламина	3А	Сывороточный агар, аэробно	На бульоне
Bacteroides	Без специального воздействия или под влиянием пенициллина	3А	Сывороточный агар, анаэробно	На бульоне
Proteus	Под влиянием: охлаждения, пересева в водопроводную воду, пенициллина или карбоксилметоксиламина	3А	Рыхлый сывороточный агар, аэробно	На бульоне и агаре
»	Под влиянием пенициллина	3В	Агар (без добавления сыворотки)	На бульоне и агаре (немедленно на средах без пенициллина)
»	Под влиянием жидкой пенициллиновой среды, наливавшейся на колонии 3В, росшие на пенициллиновом агаре	3В пловучий	Сывороточный бульон с пенициллином	Не наблюдается у адаптированных штаммов
Salmonella typhosa	Под влиянием пенициллина, *dl* метионина, *l* — фенил-аланина, ауреомицина, карбоксилметоксиламина, хлорамфеникола, антитела и комплемента, бактериофага	3А	Рыхлый сывороточный агар, анаэробиоз более благоприятен	Не наблюдается
Salmonella typhi-murium, Streptobacillus enteritidis	Под влиянием: пенициллина, глицина, *dl* — митионина, *l* — фенилаланина, ауреомицина, карбоксилметоксиламина, хлорамфеникола	3А	Рыхлый сывороточный агар, анаэробно	Не наблюдается
То же	Под влиянием пенициллина	3В	Агар (без сыворотки)	На бульоне или агаре (немедленно на среде без пенициллина)

их L-форм (Динс, Вейнбергер и Мадофф, 1950а). Два штамма и их L-формы вызывали одинаково интенсивное образование антител, а также агглютинировались антисыворотками до титра. Антисыворотка против L-формы третьего штамма слабее агглютинировала свой антиген (L-форму), но достаточно активно агглютинировала бациллярные формы других штаммов протея, т. е. была видоспецифической. В опытах насыщения бациллярная суспензия извлекала все агглютинины как из бациллярных, так и из L-антисывороток, в то время как L-формы не извлекали агглютининов из бациллярной антисыворотки. Повидимому, в L-культурах отсутствует полный набор антигенов бактериальной культуры. Тюлян (1949b) обнаружил в L-формах отсутствие H антигена, тогда как другие антигены были найдены:

Таблица 3

Сводка наблюдений над образованием L-вариантов у различных бактерий
(виды, у которых были выделены L-варианты, но последние подробно не изучались)

Бактерии, давшие L-вариант	Условия возникновения вариантов	Тип колоний	Требования к среде	Реверсия к бациллярной форме
Shigella paradysenteriae	Под влиянием пенициллина	3А	Рыхлый сывороточный агар, анаэробно	Не наблюдалось
Haemophilus influenzae	Без специального воздействия, или под влиянием пенициллина, а также глицина	3А	Кровяной агар	То же
		3В	Сывороточный агар	Наблюдалось на кровяном агаре
Flavobacterium	Без специального воздействия, или под влиянием пенициллина	3А	Сывороточный агар	Не наблюдалось
Pasteurella из зева морской свинки	Под влиянием пенициллина	3А	Сывороточный агар	То же
Clostridium tetani	То же	3А	МПА (без сыворотки)	» »
Bacillus (3 представителя)	» »	3А	МПА (без сыворотки)	» »

Сравнительный серологический анализ показал, что вариант 3А не агглютинировался антисывороткой, изготовленной при помощи, бациллярного исходного штамма протея (Динс и Вейнбергер, 1951), пловучий вариант 3В агглютинировался ею до титра, но не агглютинировался антисыворотками, полученными при помощи других штаммов протея.

Таблица 4

(по Динсу и Вейнбергеру 1951)

Сводные данные по агглютинации бациллярных культур представителей Salmonella и Proteus и их L-форм

Антисыворотки		Антигены							
		S. typhosa		S. typhi-murium		Proteus № 52		Proteus № 3	
		бациллярный	L	бациллярный	L	бациллярный	L	бациллярный	L
S. typhosa	бациллярная	1:2500	1:32	1:80*	0	0	—	0	0
	L	1:2500	1:32	1:80*	—	0	0	0	0
S. typhi-murium	бациллярная	1:320*	0	1:2500	1:80	0	—	1:40*	0
	L	1:160*	1:16*	1:640	1:80	0	0	1:10*	0
Proteus № 52	бациллярная	—	—	0	0	1:5120	1:40	1:1280	0
	L	—	—	0	0	1;40*	1:640	1:40*	0
Proteus № 3	бациллярная	—	—	0	0	1:20*	0	1:5120	1:640
	L	—	—	0	0	0	0	1:5120	1:160

* — слабая реакция; 0 — отрицательная реакция; — не производилась.

Динсом и Вейнбергером производились также успешные опыты по реакции преципитации фильтрованных вытяжек агаровой культуры L-форм протея с его антисывороткой.

4. Морфология и тонкое строение L-форм бактерий

Как уже упоминалось, L-колонии обычно состоят из гранулярных форм, промежуточных элементов и шаров.

Известно (см. Пешков, 1948), что сферические гетероморфные формы превращаются в бациллярные в результате роста и образования сигаровидных особей, которые делятся сами и, постепенно уменьшаясь, отщепляют от своих концов бациллярные формы нормальных размеров и морфологии.

Динс и Вейнбергер (1951), а также Моррис (Morris, 1953) приводят другой способ размножения гетероморфных шаров у Bacteroides (Fusiformis necrophorus). При известных условиях «шары» дают множественные пальцевидные отростки, вырастающие в нити, отщепляющие бациллярные формы.

В ряде случаев вполне развившиеся шары или сигаровидные формы вакуолизируются и лопаются, изливая свое содержимое наружу. Тюлян (1950, 1953) расценивает этот процесс как освобождение гранулярных форм, развившихся эндогенно в шарах, во внешнюю среду. К этим утверждениям следует отнестись с такой же осторожностью, как и к факту эндогенного образования бациллярных форм. Гранулярные элементы или микроформы размножаются самостоятельно, подобно бациллярным формам. Величина гранулярных элементов измеряется долями микрона. Клинебергер (1949, 1951) показала, что величина фильтрующихся элементов, определенная фильтрацией через градоколовые мембранные фильтры, оказалась равной 175—250 мμ, что соответствует размерам наименьших фильтрующихся форм возбудителя перипневмонии и величине крупных корпускулярных вирусов. Микроформы, увеличиваясь в размерах, разрастаются в крупные шары, не отличимые от шаров, получившихся из бациллярных форм. Повидимому шары, развившиеся в L-культуре из микроформ, способны их вновь производить, хотя этот процесс остается еще совершенно неизученным.

Главным физическим отличием шаров и микроформ от бациллярных элементов является их легкая деформируемость, зависящая от значительной редукции их клеточной оболочки, что подтверждается исследованием в электронном микроскопе L-форм Fusiformis necrophorus [Смит, Мадд и Хиллиер (Smith, Mudd, Hillier), 1948]. Вне зависимости от образования L-форм тонкое строение гигантских гетероморфных особей, в том числе и сферических, подвергалось подробному изучению (см. Имшенецкий, 1940; Пешков, 1940, 1948). Морфологические и цитологические изменения, претерпеваемые бактериями при переходе в гетероморфное, полиэнергидное состояние в общих чертах описаны Пешковым (1937, 1948), который также показал и обратное превращение гигантских сигаровидных особей в бациллярные.

В свете этих данных нельзя согласиться с Динсом и Вейнбергером (1951), которые, основываясь на немногих работах последних лет [Робиноу (см. Дюбо, 1948); Буавен с сотрудниками, 1947, и Пекарский, 1949; Тюлян, 1949], полагают, что ядерный аппарат бактерий представлен гранулой хроматина, причем каждая гранула якобы строго соответствует одному бактериальному элементу. Исходя из подобных примитивных и неверных представлений, они думают, как и Тюлян (1949, 1949а, 1950), что при образовании сферического элемента из червеобразной формы протея его нуклеоиды, увеличиваясь в числе, располагаются по всей толще шара, сохраняя при этом свою индивидуальность. По их мнению, при

образовании бациллярных форм из сферической хроматиновые гранулы механически переходят в бактерии, образующиеся эндогенно или экзогенно. Это рассуждение в корне неверно, так как разрастание бациллярной особи протея в шар чаще всего сопровождается переходом вещества нуклеоидов в губчатое состояние (Пешков, 1948).

При образовании бациллярных форм, они вначале также способны проявлять губчатое строение ядерного вещества, которое затем может конденсироваться в нуклеоиды, хотя это и не обязательно. Тюлян и Вандрели (Tulasne et Vendrely, 1947), применяя обработку бактерий рибонуклеазой с последующей окраской по Романовскому — Гимза, получили, как и многие другие, отчетливую картину окраски нуклеоидов ряда бактерий. Этот же метод был применен Тюлянем (1949, 1949а) для изучения L-форм протея, причем в шарах им было обнаружено только зернистое распределение хроматина, а L-формы оказались состоящими почти нацело из хроматина, окруженного тонким ободком протоплазмы. Повидимому, строение шаров, промежуточных элементов и микроформ гораздо сложнее и разнообразнее, чем это было показано Динсом и Смитом (1943) и Тюляном, не применявшим других, более точных цитологических методов окраски бактерий (Гимза — лихтгрюн — Пешков, 1945) или Гимза — лихтгрюн-таннин, (Пешков, Раутенштейн, Сорокина, Чередниченко, Шаркова, 1952).

Интересно наблюдение Буавена с сотрудниками (1947) о повышении количества дезоксирибонуклеиновой кислоты в L-формах и снижения содержания в них рибонуклеиновой кислоты, что может быть связано с изменением характера метаболизма, обеспечивающего сохранение вида при неблагоприятных условиях (Динс и Вейнбергер, 1951).

Существует тенденция связывать образование шаров с половым процессом (Клинебергер, 1949). Но эти данные крайне недостоверны и носят скорее спекулятивный, чем фактический характер.

5. Взаимоотношения L-культур бактерий с другими проявлениями их гетероморфного роста, а также с фильтрующимися формами

Что же представляют собой L-формы бактерий и в чем их существенное отличие от бактерий типа Achromobacter epsteinii (Пешков, 1937) или Flavobacter sp. n., описанного Луговой в 1948 г., проявляющих резко выраженный гетероморфный цикл развития?

Бактерии, которым свойственна история развития типа Achromobacter epsteinii, под влиянием тех или иных физических или химических факторов прекращают делиться, но продолжают расти, превращаясь в крупные шары (до 20 μ) в поперечнике и приобретая своеобразное внутреннее строение, напоминающее таковое лейкоцита или малярийного тканевого шизонта.

Часть подобных гигантских особей неизменно погибает, если возникают условия, мало благоприятные для их развития (например, чересчур низкая температура или высокая концентрация солей). Но другие начинают вырастать в длину, приобретая вид сигары и делясь, а также отщепляя все меньшие и меньшие особи от своих концов, переходят вновь в бациллярное состояние.

Такая история развития (Пешков, 1948), повидимому, является отражением тех явлений роста и физиологического гигантизма юных форм бактерий, которые были установлены еще Энрици (см. Пешков, 1948).

Этот физиологический гигантизм юных особей связан с существенными изменениями метаболизма нуклеиновых кислот, а также белкового и водного обмена. Базофилия цитоплазмы гигантских юных особей резко возрастает за счет накопления в последней рибонуклеиновых соединений

(Пешков и Белозерский, 1948), активизирующих ферментные системы. Как и в случае гетероморфного роста, вызывающего появление гигантских «шаров», при гомеоморфном росте [1] гигантизм юных особей связан с продолжающимися процессами роста и временной задержкой процессов деления, что и приводит к образованию увеличенных форм.

Первые этапы развития L-культур из бациллярных, вплоть до образования и размножения гетероморфных гигантских форм, протекают совершенно аналогично началу хода развития Achromobacter epsteinii. Бациллярные формы прекращают делиться и разрастаются в крупные шары.

Как и в культурах Achromobacter epsteinii, часть таких шаров вакуолизируется и гибнет, оставляя после себя пузыревидные полости, которые придают культуре пенистый вид. Другие же начинают отпочковывать на своей поверхности карликовые элементы.

Величина карликовых элементов L-форм измеряется десятыми долями микрона, что обуславливает их фильтруемость. Они размножаются делением, а также почкованием. Многие карликовые формы путем роста превращаются в крупные шары, которые способны вновь отщеплять карликовые формы. Помимо образования карликовых форм, L-культура обычно надолго, а подчас навсегда, утрачивает способность возврата к бациллярному состоянию, и размножение ее шаровидных форменных элементов происходит лишь вышеописанным путем.

В связи с развитием учения об L-формах это понятие успело приобрести черты некоторой неопределенности, так как к L культурам начали относить различные варианты бактерий, которые под влиянием тех или иных факторов стали проявлять черты гетероморфного типа развития с образованием гигантских форм.

Так, Горошевич (Horoszewicz, 1953) описывает возникновение гетероморфных особей кишечной палочки под влиянием хлоромицетина, как образование L-форм, хотя сам автор подчеркивает, что ему не удалось получить типичных L-колоний.

С другой стороны, некоторые (Фрэйндт, 1950) называют L-формами лишь карликовые особи типа элементарных телец. В то же время исследователи, видимо получившие L-формы бактерий, называют выращенные ими варианты либо g-формами (Штуцер, 1951) по Хэдли (Hadley, с сотр. 1931) или обозначают их просто как фильтрующиеся культуры (Солнцева, 1953, Купрейчик, 1953).

В целях упорядочения терминологии Тюлян (1953) предлагает называть L-культурами лишь такие варианты бактерий, которые содержат карликовые (элементарные тельца), гигантские (шары) и промежуточные формы, связанные цепью взаимных превращений, обуславливающих так называемый L-цикл развития бактерий.

Знакомясь с основными свойствами L-вариантов бактерий, необходимо остановиться на их взаимоотношениях с так называемыми фильтрующимися формами бактерий. Поскольку природа последних не раз обсуждалась в прессе (Кирхенштейн, 1943; Калина, 1949, 1953; Крестовникова, 1950; Кривиский, 1952; Солнцева, 1953, 1953а; Израильский, 1953; Имшенецкий и Солнцева, 1954; Клинебергер-Нобель, 1951), можно лишь отметить, что фильтрующиеся микроформы L-культур не исчерпывают всего разнообразия фильтрующихся форм бактерий, но должны рассматриваться наряду с g-культурами Хэдли (Клинебергер, 1951) как один из видов микроформ, способных проходить через бактериальные фильтры.

Роль L-форм бактерий в патологии живых существ, в том числе и человека, будет освещена в другом сообщении.

Получено 10.IV.1954 г.

[1] Гомеоморфный или мономорфный рост, противополагающийся гетероморфному типу развития.

ЛИТЕРАТУРА

Гамалея Н. Ф. Гетероморфизм бактерий под влиянием солей лития, Врач, № 20, 1894.
Дюбо Р. Бактериальная клетка. М., И. Л. 1948.
Жолкевич А. Я. Проблемы образования реактивных форм у бактерий в свете учения О. Б. Лепешинской. Успехи совр. биол., 33, 101—116, 1952.
Израильский В. П. Фильтрующиеся формы клубеньковых бактерий, I, Микробиология, XXII, 645, 1953.
Имшенецкий А. А. К морфологии гигантских бактериальных клеток. ДАН СССР, 16, 223, 1937.
Имшенецкий А. А. Критика метафизической теории изменчивости бактерий (циклогении). Микробиология, VIII, 491, 1939.
Имшенецкий А. А. Строение бактерий. М., 1940.
Имшенецкий А. А. и Солнцева Л. И. Фильтрующиеся формы и изменчивость Bact. fluorescens liquefaciens. Микробиология, XXIII, 27, 1954.
Калина Г. П. Изменчивость патогенных микроорганизмов. Киев, 1949.
Калина Г. П. Стадийное развитие микробов — объективная реальность. Микробиология, XXII, 95, 1953.
Кирхенштейн А. Изменение формы туберкулезной палочки в мокроте чахоточных. Мед. современник, № 13, 41, 1943.
Коляков Я. Е. Ветеринарная микробиология. Сельхозгиз, М., 1952.
Коробкова Е. Н. К цитологии холерных вибрионов. Вестн. микроб., эпид. и паразит., 10, 335, 1931.
Коробкова Е. Н. О фильтрующихся формах холерного вибриона. Вестн. микроб., эпидем. и паразит., 12, вып. I, 1933.
Красильников Н. А. История развития Azotobacter в связи с проблемой полиморфизма. Микробил. журн., 12, 16, 1931.
Красильников Н. А. О неклеточных формах у микроорганизмов. Успехи совр. биол.. 37, 22, 1954.
Крестовникова В. А. К учению о стадиях развития микроорганизмов. М., 1950.
Кривиский А. С. О роли фильтрующихся форм в биологии микроорганизмов. Микробиология, XXI, 596, 1952.
Кричевский И. Л. и Рубинштейн П. Л. О плеоморфизме у бактерий. О плеоморфизме у B. typhi abdom. в связи с условиями, определяющими его. Журн. микроб., эпидем. и иммун., 16, 564, 1936.
Кудрявцев В. И. К вопросу о полиморфизме бактерий. Новые формы развития Bac. megatherium. Изв. АН СССР, 9, 1301, 1932.
Купрейчик М. А., О фильтрующихся формах желтой сарцины. Микробиология, XXII, 535, 1953.
Луговая Л. В., Возрастные изменения бактериальных колоний и составляющих их особей. Журн. микроб., эпидем. и иммун., 14, 787, 1935.
Луговая Л. В. О значении гигантских полиморфных клеток в развитии культуры Flavobacter sp. n. Тр. Ин-та цитологии, гистологии и эмбриологии, 2, 199, 1948.
Луговая Л. В. и Лебедева Е. А. Материалы к вопросу о ядре у B. pestis и B. pseudotuberculosis rod. Pf. Вестн. микроб., эпидем. и паразит., 10, 141, 1931.
Марциновский Е. De l'étiologie de la réripneumonie. Ann. Inst. Pasteur, 25, 914, 1911.
Пешков М. А., Бактериальная колония как гистологический объект. Журн. микроб., эпидем. и иммун., 16, вып. 2, 257, 1936.
Пешков М. А. Цикл развития водного сапрофита. Achromobacter epsteinii mihi и его ядерных форм. Биологич. журн., 6, 971, 1937.
Пешков М. А. Параллельное изучение окрашенного и живого ядра Achromobacter epsteinii. Биологич. журн., 7, 1035, 1938.
Пешков М. А. Полиэнеридные стадии развития бактерий в связи с изменениями их ядерного аппарата. Диссертация. Библиотека Ин-та ботаники МГУ, 1940.
Пешков М. А. Цитология и кариология бактерий coli-typhus группы. Журн. микроб., 1911. эпидем. и иммун., № 4—5, 10—16, 1945.
Пешков М. А. Кариология цикла развития Proteus vulgaris Hauser. Микробиология, XV, 99, 1946.
Пешков М. А. Полиэнергидные стадии развития бактерий в связи с изменениями их ядерного аппарата. Тр. Ин-та цитологии, гистологии и эмбриологии АН СССР, 1, вып. 2, 1948.
Пешков М. А. и Белозерский А. Н. Опыт цитологической, биохимической и иммунобиологической характеристики протопласта дизентерийной бактерии Флекснер. Журн. микроб. эпидем. и иммун., № 2, 1948.
Пешков М. А., Раутенштейн Я. И., Сорокина М. И., Чередниченко А. Ф. Шаркова А. С. Цитологические изменения мицелия Act. globisporus при лизисе его под влиянием актинофага. Микробиология, XXI, 665, 1952.
Покровская М. Zytologische Beobachtungen über den Dissoziationsprozess der Pestbacillen. Ztbl. Bakt., I. Or. 119, 353, 1931.
Солнцева Л. И. Гигантские бактериальные клетки и фильтрующиеся формы. Микробиология, XXII, 653, 1953.

Солнцева Л. И. К методике изучения фильтрующихся форм бактерий. Микробиология, XXII, 151, 1953 а.
Фарзалиев (1948). Цит. по Колякову.
Чернобаев В. С. Изменчивость микроорганизмов при старении культур. Журн. микроб., эпидем. и иммун., 21, 20, 1938.
Штуцер М. И., Морфология, систематика и диссоциация бактерий. Руков. по микробиол и эпидем., I, 80, 1937.
Штуцер В. И., Особенности микрофлоры поздних осложнений после черепно-мозговых ранений. Автореферат диссертации на соискание ученой степени доктора медицинских наук. Акад. Мед. наук. М., 1951.
Bisset K. A., The cytology and life-history of bacteria. Edinburgh, 1950.
Boivin A., Tulasne R., Vendrely R. et Minck R. Le noyau des bactéries. Cytologie et cytochemie des bactéries normales et des bactéries traitées par la penicilline. Arch. Sci. physiol., I, 307, 1947.
Bordet J. La morphologie du microbe de la péripneumonie des bovidés. Ann. Inst. Pasteur, 24, 161, 1910.
Borrel A., Dujardin-Beaumetz E., Jeantet et Jouan. Le microbe de la péripneumonie, Ann. Inst. Pasteur, 24, 168, 1910.
Bridré J. et Donatien A. Le microbe de l'agalaxie contagieuse du mouton et de la chèvre. Ann. Inst. Pasteur, 39, 925, 1925.
Dawson M. H. and Hobby G. L. Pleuropneumonia-like organisms as a variant phase of Streptobacillus moniliformis. Third Internat. Congr. Microbiol., 21. Abstr., 177, 1939.
Dienes L. Further observations on the L organism of Klieneberger. Proc. Soc. Explt. Biol. Med., 39, 365, 1939.
Dienes L. L-organism of Klieneberger and Streptobacillus moniliformis. J. Infect. Dis., 65, 24, 1939a.
Dienes L. L type of growth in gonococcus cultures. Proc. Soc. Explt. Biol. Med., 44, 470, 1940.
Dienes L. Isolation of L type growth from a strain of Bacteroides funduliformis. Proc. Soc. Explt. Biol. Med., 47, 385, 1941.
Dienes L. The significance of the large bodies and the development of L type of colonies in bacterial cultures. J. Bact., 44, № 1, 37, 1942.
Dienes L. L type of growth in cultures of hemolytic parainfluenza bacillus. Proc. Soc. Explt. Biol. Med., 55, 142, 1944.
Dienes L. Morphology and nature of the pleuropneumonia group of organisms. J. Bact., 50, 441, 1945.
Dienes L. Reproductive processes in Proteus cultures. Proc. Soc. Explt. Biol. Med., 63, 265, 1946.
Dienes L. Complex reproductive processes in bacteria. Cold Spring Harbor Symposia on Quantitative Biology. XI, Heridity and variation in microorganisms, 51, 1946a.
Dienes L. Isolation of pleuropneumonia-like organisms from H. influenzae with the aid of penicillin. Proc. Soc. Explt. Biol. Med., 64, 166, 1947.
Dienes L. Further observations on the reproduction of bacilli from the large bodies in Proteus cultures. Proc. Soc. Explt. Biol. Med., 66, 97, 1947a.
Dienes L. The morphology of the L1 of Klieneberger and its relationship to Streptobacillus moniliformis. J. Bact., 54, 231, 1947b.
Dienes L. Isolation of L type colonies from typhoid bacilli with the aid of penicillin. Proc. Soc. Explt. Biol. Med., 68, 589, 1948.
Dienes L. The influence of penicillin on the growth of Proteus cultures. Proc. Meetings Soc. Am. Bact., 1, 3, 1948a.
Dienes L. The isolation of L type cultures from Bacteroides with the aid of penicillin and their reversion into the usual bacilli. J. Bact., 56, 445, 1948b.
Dienes L. Isolation of an L type culture from a gram positive spor bearing bacillus. Proc. Soc. Explt. Biol. Med., 71, 30, 1949.
Dienes L. The development of Proteus cultures in the presence of penicillin. J. Bact., 57, 529, 1949a.
Dienes L. Isolation of L type culture from Clostridia. Proc. Soc. Explt. Biol. Med., 75, 412, 1950.
Dienes L. Some new observations on L forms of bacteria. J. Bact., 66, 274, 1953.
Dienes L. Electron micrographs made from L forms of Proteus and two human strains of pleuropneumonia-like organisms. J. Bact., 66, 280, 1953a.
Dienes L., Ropes M. W., Smith W. E., Madoff S. and Bauer W. The role of pleuropneumonia-like organisms in genito-urinary and joint diseases. New England, J. Med., 238, 509, 563, 1948.
Dienes L. and Smith W. E. Reproduction of bacteria from the large bodies of Bacteroides funduliformis. Proc. Soc. Explt. Biol. Med., 51, 297, 1942.
Dienes L. and Smith W. E. Chromatin structures suggesting a nuclear apparatus in the large bodies of B. funduliformis. Proc. Soc. Explt. Biol. Med., 53, 195, 1943.
Dienes L. and Smith W. E. The significance of pleomorphism in bacteroides strains. J. Bact., 48, No. 2, 125, 1944.
Dienes L. and Weinberger H. J. The L forms of bacteria. Bact. Rev., 15, 245, 1951.

Dienes L., Weinberger H. J. and Madoff S. The transformation of typhoid bacilli into L forms under various conditions. J. Bact., **59**, 755, 1950.
Dienes L. Weinberger H. J. and Madoff S. Serological reactions of L type cultures isolated from Proteus. Proc. Soc. Exptl. Biol. Med., **75**, 409, 1950a.
Dienes L. and Zamecnik. The transformation of bacteria into L forms by amino-acides. I. Bact., 64, 770, 1952.
Ebel J., Vendrely R. et Tulasne R. Action de la pénicilline sur le métabolisme phosphoré et azote du Proteus vulgaris. C. R. Soc. Biol., **144**, 1415, 1950a.
Edward D. G. ff. The occurrence in the normal mice of pleuropneumonia-like organisms capable of producing pneumonia J. Path. bact., **50**, 409, 1940.
Favour C. B. Bacteriological study of carboxylmethoxylamine hemihydrochloride. J. Bact., **55**, 1948.
Finday G. M., Mac Kenzie R. D., Mac Callum F. O. and Klieneberger E. The etiology of polyarthitis in the rat. Lancet, **237**, 7, 1939.
Freundt E. A. Observations on Dienes L-type growth of bacteria. Acta Path. et Microb. Scand., **27**, 159, 1950.
Freundt E. A. Morphological studies of the peripneumonia organisms Micromyces peripneumonia bovis. Acta Path. et Microb. Scand., **31**, 508, 1952.
Freundt E. A. The nature of the «Large bodies» in the peripneumonia organism. (Micromyces peripneumoniae bovis). Acta Path. et Microb. Scand., **31**, fasc. 4, 561, 1952a.
Freundt E. A. Morphological and biochemical investigations of human pleuropneumonia organisms (Micromyces). Acta Path. et Microb. Scand., **34**, fasc. 2, 127, 1954.
Gotthardson A., Melen B. Isolation of pleuropneumonia-like organisms from ovarian abscess. Acta Path. et Microb. Scand., **33**, 291, 1953.
Hadley P., Delves E. and Klimek J. The filterable forms of bacteria: I. A filterable stage in the life history of the Shiga dysentery bacillus. J. Infect. Dis., **48**, 1, 1931.
Horoszewicz J. Z badań nad postaciami L drobnoustrojów. Acta microbiol. polon., **2**, 121, 1953.
Klieneberger E. Bakterien pleomorphismus und Bakterienentwicklungsgänge. Ergebn. d. Hyg. Bakt. Immun. Forsch. u. exp. Ther., **11**, 499, 1930.
Klieneberger E. The colonial development of the organisms of pleuropneumonia and agalactia on serum agar and variations of the morphology under different conditions of growth. J. Path. Bact., **39**, 409, 1934.
Klieneberger E. The natural occurence of pleuropneumonia-like organisms in apparent symbiosis with Streptobacillus moniliformis and other bacteria. J. Path. Bact., **40**, 93, 1935.
Klieneberger E. Furthes studies on Streptobacillus moniliformis and its symbiont. J. Path. Bact., **42**, 587, 1936.
Klieneberger E. Pleuropneumonia-like organisms of diverse provenance: Some results of an enquiry into methods of differentiation. J. Hyg., **38**, 458, 1938.
Klieneberger E. The pleuropneumonia-like organisms: Further comparative studies and a descriptive account of recently discovered types. J. Hyg., **40**, 204, 1940.
Klieneberger E. Some new observations on the nature of the pleuropneumonia-like organisms known as L1 associated with Streptobacillus moniliformis. J. Hyg., **42**, 485, 1942.
Klieneberger-Nobel E. Isolation and maintenance of an L1-like culture from Fusiformis necrophorus (syn. Bact. funduliforme, Bacteroides funduliformis). J. Hyg., **45**, 407, 1947.
Klieneberger-Nobel E. Origin, development and significance of L forms in bacterial cultures. J. Gen. Microb., **3**, 434, 1949.
Klieneberger-Nobel E. On Streptobacillus moniliformis and the filtrability of its L forms. J. Hyg., 47, 393, 1949a.
Klieneberger-Nobel E. Methods for the study of the cytology of bacteria and pleuropneumonia-like organisms. Quart., J. Microb. Sci., 3-rd Ser., **91**, 340, 1950.
Klienberger-Nobel E. Filterable forms of bacteria, Bact. Rev., **15**, 77, 1951.
Klieneberger-Nobel E. The L cycle: a process of regeneration in bacteria. J. Gen. Microb., **5**, 525, 1951a.
Klieneberger E. and Smiles J. Some new observations on the developmental cycle of the organisms of bovine pleuropneumonia and related organisms. J. Hyg., **42**, 110, 1942.
Klieneberger E. and Steabben D. On the pleuropneumonia-like organism in lung lesions of rats with notes on the clinical and pathological features of the underlying conditions. J. Hyg., 37, 143, 1937.
Kuhn Ph. und Sternberg K. Über Bakterien und Pettenkoferien. Ztbl. Bakt. **I**, Or. 121, 113, 1931.
Kunst H. Microorganismen van de pleuropneumonia groep. Tijdschr. dier geneeskunde, 78, 625, 1953.
Laidlaw P. P. and Elford W. J. A new group of filtrable organisms. Proc. Roy. Soc., B, **120**, 292, 1936.
Levaditi C., Nicolau S. et Poincloux P. Sur le rôle étiologique de Streptobacillus monileformis (n. sp.) dans l'érythème polymorphe aigu septicémique C. R. Acad. Sci. CL XXX, 1188, 1925.

Liebermeister K. Elektronenmikroskopische Untersuchungen zur Morphologie der PPLO. IV Congresso internazionale di microbiologia, Roma, Riassunti della comunicazioni, 1, sezioni 1, 59, 1953.
Mackie T. J., Van Rooyen C. and Gilroy E. An epizootic disease occurring in a breeding stock of mice: bacteriological and experimental observations. Brit. Journ. Exp. Path., 14, 132, 1933.
Minck R. Obtention des formes L à partir des vibrions cholériques. Propriétés pathogènes. Application à la protection des souris contre la maladie expérimentale. C. R. Acad. Sci., 251, 386, 1950.
Minck R. Les formes L du vibrion cholérique. Etudes de quelques unes de leur propriétes. Schw. Z. allg. Path. Bakt., 14, 595, 1951.
Minck R. Formes L des bactéries et organismes du type de la péripneumonie. VI Congresso internazionale di microbiologia, Riassunti della communicazioni. 1, sezione 1, Sottosezione B. Morphologia generale e cytologia microbica, Roma, 1953.
Minck R. et Minck A. Obtention de formes, naines (formes L) a partir d'une souche de vibrion cholérique soumise a l'action de la pénicilline. C. R. Soc. Biol., 145, 927, 1951.
Morris E. Observations upon the cytology and life-cycle of Fusiformis. J. Hygiene, 51, No. 1, 49, 1953.
Moustardier G., Brisou J., Perrey M. Transformation en bactéries normales d'organismes L isolés par culture à partir d'urethrites amicrobiennes à inclusions. Ann. Inst. Pasteur, 85, 520, 1953.
Nelson E. L. and Picketl M. J. The recovery of L forms of Brucella and their relation to Brucella phage. J. Inf. Dis., 89, 221, 1951.
Nocard, Roux, Borrel, Salimbeni et Dujardian-Beaumetz. Le microbe de la péripneumonie. Ann. Inst. Pasteur 12. 240, 1898.
Oerskov J. Method for the isolation of bacteria in pure culture from single cells and procedure for the direct tracing of bacterial growth on a solid medium. J. Bact., 7, 537, 1922.
Oerskov J. Streptobacillus moniliformis and the morphology of its variants. Arch. Path. Microb., 19, 579, 1942.
Oerskov J. Some observations on an aberrant bacteria morphology in Proteus vulgaris. Acta Path. Microb. Scand., 24, 198, 1947.
Paine T. F. and Finland M. Observations on bacteria sensitive to resistant to, and dependant upon Streptomycine. J. Bact., 56, 1948.
Pierce C. H. Streptobacillus moniliformis, its associated L1 form and other pleuropneumonia-like organisms. J. Bact.. 43, 780 (Abstr.), 1942.
Piekarski G. Zum Problem des Bakterien Zellkerns. Ergebn. Hyg. Bact. Immunitätsforsch., Exper. Therap., 26, 333, 1949.
Pulvertaft R. J. V. The L forms of bacteria in relation to antibiotics. J. Path. Bacteriol., 65, 175, 1953.
Reed G. and Orr J. H. Influence of H ion concentration upon structure: H. influenzae. J. Bact., 8, 103, 1923.
Sabin A. B. The filterable microorganisms of the pleuropneumonia group. Bact. Rev., 5, 1, 1941.
Seiffert G. Ueber das Vorkommen filtrabler Microorganismen in der Natur und ihre Züchtbarkeit. Ztbl. Bakt. I. Abt., Or., 139, 337, 1937.
Shoettensack M. Pure cultivation of the filtrable virus isolated from canine distemper, Kitasato Arch. Explt. Med., 11, 277, 1934.
Silberstein J. K. Observations on the L forms of Proteus and Salmonella. Schweiz. Z. allgem. Path. und Bakt., 16, No, 4, 739, 1953.
Smith W. E., Mudd S. and Hillier J. L-type variation and bacterial reproduction by large bodies as seen in electron micrograph studies of Bacteroides funduliformis. J. Bact., 56, 603, 1948.
Strangeways W. I. Rats as carriers of Streptobacillus moniliformis, J. path. Bact., 37, 45, 1933.
Tang F. F., Wei H., Mc Whirter D. L., and Edgar J. An investigation of the causal agent of bovine pleuropneumonia. J. Path. Bact., 40, 391, 1935.
Tulasne R. Existence of L forms in common bacteria and their possible importance. Nature, 164, 876, 1949.
Tulasne R. Cytologie des Proteus et ses modifications sous l'effet de la pénicilline. C. R. Soc. Biol., 143, 286, 1949a.
Tulasne R. Sur une évolution du Proteus vers des microcolonies et des formes inframicroscopiques sous l'effet de la pénicilline. C. R. Soc. Biol., 143, 289, 1949b.
Tulasne R. Sur la production des formes submicroscopiques (formes filtrantes) par des bactéries de caractère banal et sur leur signification possible en pathologie infectueuse. Bull. Acad. Med., 133, 409, 1949c.
Tulasne R. Quelques données nouvelles sur la formation et les caractères de culture des formes L du Proteus vulgaris. C. R. Soc. Biol., 144, 1200, 1950.
Tulasne R. Nouvelles observations sur les formes L des bactéries. Reproduction des formes L. Processus de la reversion des formes L en formes bactériennes normales C. R., Soc. Biol., 145, 429, 1950a.

Tulasne R. Quelques données récentes sur la biologie des bactéries. Comportement du noyau au cours de la division bactérienne. Production de formes submicroscopiques résistantes à la pénicilline. Bull. Assoc. Dipl. Microbiol., Pharmacie, Nancy, **144**, 1200, 1950b.

Tulasne R. Les formes L des bactéries. Revue d'immunologie, **15**, 223, 1951.

Tulasne R. Le cycle L et les formes naines des bactéries. VI° Congresso internazionale di microbiologia. Symposium citologia batterica. Roma, 144, 1953.

Tulasne R. et Bringmann G. Données nouvelles apportées par la microscopie électronique sur la morphologie des formes L des bactéries. Revue d'immunologie, **16**, 325, 1952.

Tulasne R. et Minck R. Sensibilité comparée des formes normales et des formes L de 2 souches de proteus vis à vis de quelques antibiotiques. C. R. Soc. Biol., **146**, 778, 1952.

Tulasne R. et Vendrely R. Démonstration of bacterial nuclei with ribonuclease. Nature, 160, 225, 1947.

Tulasne R., Vendrely R., Minck R. et Muller L. Technique pour la culture des formes submicroscopiques (formes L) du Proteus vilgaris en milieu liquide. C. R. Acad. des Sci., **230**, 152, 1950.

Turner A. W. A study of the morphology and life-cycles of the organism of pleuropneumonia contragiosa bovum (Borrelomyces peripneumonia novum genus) by observations in the living state under dark-ground illumination. J. Path. Bact., **41**, 1, 1935.

Vendrely R. et Tulasne R. Premières observations sur la constitution chimique des bactéries. Bull. Soc. Chim. Biol., **34**, 785, 1952.

Vendrely R. et Tulasne R. Chemical constitution of the L forms of bacteria. Nature, **171**, 262, 1953.

Weinberger H. J., Madoff S. and Dienes L. The properties of L forms isolated from Salmonella and the isolation of L forms from Shigella. J. Bact., **59**, 765, 1950.

РЕФЕРАТЫ

ОБЩАЯ МИКРОБИОЛОГИЯ, МОРФОЛОГИЯ, ФИЗИОЛОГИЯ И БИОХИМИЯ

Verhoeven W. and Goos J. J. C. **Studies on true dissimilatory nitrate reduction. I. Fate of the hydrogen donator in bacterial nitrate reduction.** (Изучение истинной диссимиляторной денитрификации. I. Судьба донатора водорода при бактериальном восстановлении нитратов). Antonie van Leeuwenhoek. J. of Microb. and Serology, v. 20. No. 1, pp. 93—101, 1954.

Автор предлагает термин истинная диссимиляторная денитрификация для обозначения процесса биологического превращения нитратов, сопровождающегося освобождением энергии. Известно, что превращение нитратов происходит с образованием различных продуктов восстановления — нитритов, аммиака, азота и закиси азота. В последнее время получены данные, указывающие на то, что около 90% углерода потребленного органического вещества обнаруживается в виде CO_2; 10% падает на углерод, входящий в состав бактериальных клеток (Sacks and Barker, 1952). Для выяснения этого вопроса автор использовал Pseudomonas aeruginosa, штамм 4. Среда приготовлялась на водопроводной воде и содержала 0,1% K_2HPO_4, 0,05% $MgSO_4 \cdot 7H_2O$, глюкозу и нитраты в различных концентрациях; pH-7,0 и 7,2. Опыт ставился в анаэробных условиях; образовавшийся газ поступал в газовую бюретку. Как только выделение газа прекращалось, опыт заканчивали. Если процесс протекал энергично, то нитраты, нитриты и аммиак не содержались в среде. Образовавшийся газ во всех опытах состоял из CO_2, N_2 и N_2O. Параллельная проба служила для определения углекислоты. Определялась также остаточная глюкоза и количество азота в органическом веществе.

Баланс азота показал, что Ps. aeruginosa превращает большие количества нитратов в N_2 и N_2O. Количество N_2O составляло около 10%. Значительное количество нитратов потребляется на построение белков бактериальных клеток. Согласно балансу углерода, на среде с глюкозой не происходит заметного накопления продуктов неполной дегидрогенизации. Однако на среде с этиловым и пропиловым спиртами найдены уксусная и пропионовая кислота, а также ацетон. Около 25% сахара потребляется в синтетических процессах и около 75% на процессы, связанные с получением энергии.

На основании баланса углерода и азота автор выводит окислительно-восстановительный баланс.

Исходя из количества продуктов, полученных при восстановлении нитратов, автор вычисляет эквивалентные количества водорода, необходимого для их образования, по следующим уравнениям:

$$HNO_3 + 8H \rightarrow NH_3 + 3H_2O$$
$$HNO_3 + 5H \rightarrow {}^1/_2\, N_2 + 3H_2O$$
$$HNO_3 + 4H \rightarrow {}^1/_2\, N_2O + 2\,{}^1/_2\, H_2O$$

Водород получается при дегидрогенизации глюкозы согласно уравнению:

$$C_6H_{12}O_6 + 6H_2O \rightarrow 6CO_2 + 24H$$

Сопоставление экспериментальных данных приводит автора к выводу, что водород глюкозы, окисленной до CO_2, приблизительно соответствует количеству водорода, необходимому для образования полученных продуктов восстановления нитратов.

Л. Штурм

Breed Robert S. and Lessel E. F. Jr. **The classification of luminescent bacteria.** (Классификация светящихся бактерий). Antonie van Leeuwenhoek. J. of Microb. and Serology, v. 20, No. 1, pp. 58—64, 1954.

В связи с подготовкой различных изданий определителя бактерий Bergey выяснилось, что классификация светящихся бактерий разработана явно недостаточно. Настоящая работа имеет целью дать классификацию светящихся бактерий, описанных в литературе, в согласии с принципами номенклатуры и таксономии.

Все светящиеся бактерии грамотрицательны и снабжены полярным жгутиком (в состоянии подвижности). По этим признакам их следует отнести или к семейству Pseudomonodaceae или Spirillaceae. Способность светиться называют обычно фосфорес-

ценцией. Этот термин указывает на то, что они абсорбируют световую энергию и позднее излучают ее в темноте. Однако чаще употребляют термин люминесценция, т. е. способность излучать собственный свет.

Постоянство этого признака побудило Бейеринка объединить светящиеся бактерии в один род Photobacterium.

К этому роду Бейеринк причислил четыре вида: P. phosphorescens Beijer., P. indicum Beijer., P. fischeri Beijer. и P. luminosum Beijer. Морфологические признаки не были приняты во внимание, хотя в этом отношении наблюдаются различия, что вызывает сомнение в принадлежности этих видов к одному роду.

Тем не менее Photobact. phosphorescens Beijer считается типичным представителем видов этого рода. Поэтому автор приводит, с некоторыми позднейшими дополнениями, описание этого вида, данное Бейеринком. К нему относятся кокковидные, обычно неподвижные формы, а также прямые палочковидные светящиеся бактерии с полярными жгутиками, сбраживающими глюкозу, но не всегда с образованием H_2 и CO_2, как это свойственно основному представителю вида.

Род Photobacterium Beijerinkii (1889) с дополнительной характеристикой включает не только типичных представителей вида Photobact. phosforescens, но и два других установленных вида.

Более сорока видов светящихся бактерий, перечисленных в седьмом издании определителя бактерий Bergey, идентичны или очень близки по своим свойствам к трем видам, принадлежащим к этому роду.

Два из четырех видов, первоначально причисленных к роду Photobacterium, исключены из этого рода и должны рассматриваться как представители рода Vibrio.

Еще Lehmann и Neumann (1896) отнесли P. indicum и P. luminosum к Vibrio.

Позднее были описаны и другие светящиеся вибрионы.

Л. Штурм

Thayer P. S. **The Amylases of Pseudomonas saccharophila.** (Амилазы Ps. saccharophila). J. Bact., v. 66, No. 6, pp. 656—663, 1953.

Для изучения амилолитических энзимов культуры Pseudomonas saccharophila выращивались на среде, содержащей в процентах: NH_4Cl — 0,1; $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ — 0,05; железо-аммиачной соли лимонной кислоты — 0,005; $CaCl_2$ — 0,0005; источника углерода — 0,2; к среде добавлялся фосфатный буфер, pH = 6,8; инкубация при 30° со встряхиванием. Источниками углерода служили: растворимый крахмал, амилопектин и амилаза. Для получения внутриклеточного энзима клетки разрушались растиранием с окисью алюминия или действием ультразвуковых колебаний на магнитно-стрикционном вибраторе при частоте 9 кгц. Исследованием было подтверждено, что Ps. saccharophila образует две амилазы: внутриклеточную и внеклеточную. Оба энзима образуются только в присутствии крахмала, гликогена, амилопектина и мальтозы. Присутствие целлобиозы вызывает образование только внутриклеточной амилазы.

Внеклеточная амилаза адсорбировалась из культуральной жидкости пропусканием ее через колонку из картофельного крахмала и элюировалась с него раствором растворимого крахмала.

Внутриклеточная амилаза получалась методом высаливания из суспензии разрушенных клеток сернокислым аммонием. Наилучшие результаты были получены при 0,5 насыщения. Максимальную активность энзимы проявляли при pH-5,4.

Внеклеточная амилаза является декстриногенной типа α-амилазы, гидролизует крахмальные субстраты до олигосахаридов, включающих в себя нерастворимые декстрины с прямой цепочкой из восьми глюкоз.

Внутриклеточная амилаза представляет собой комбинацию двух или большего числа энзимов типа β-амилазы. Гидролизует крахмальные субстраты до мальтозы и глюкозы.

Е. Рубан

Khambata S. R. and Bhat I. V. **Bacterium oxalaticum, a new oxalate-decomposing Bacterium isolated from the intestine of earthworms.** (Bacterium oxalaticum — новая разлагающая оксалат бактерия, изолированная из кишечника земляного червя). Proc. Ind. Acad. Sci., v. 38, No. 4, pp. 157—161, 1953.

Из кишечника земляного червя была изолирована Bact. oxalaticum, разлагающая оксалат. Выделенный микроорганизм принадлежит к семейству Pseudomonadoceae и представляет собой короткие толстые коккобациллы, грамотрицательные с размерами 1,0 × 1,1—1,3 μ, неспорообразующие, неподвижные, образующие капсулу. На питательном агаре колонии мелкие, плотные, с ровным краем, слегка опалесцирующие. На агаре Баркера с оксалатом на пятые сутки вырастают колонии диаметром 0,5 мм, мягкие, непрозрачные, белые, слегка флюоресцирующие с ровным краем. На бульоне образуется тонкая опадающая пленка. Bacterium oxalaticum восстанавливает NO_3 до NH_3, индола

не образует. H_2S образует в малых количествах, лакмусовое молоко подщелачивает и пептонизирует, образует каталазу, сбраживает глюкозу, лактозу, сахарозу, мальтозу, декстрин, крахмал, глицерин и маннит без образования кислот и газа.

Использует $(NH_4)_2SO_4$ в качестве источника азота на минеральной среде. Источниками углерода для B. oxalaticum могут служить оксалаты, формиаты, лактаты, глюкоза, декстрин, крахмал, но суккцинаты, цитраты и ацетаты данным микроорганизмом не используются. Хорошо растет на средах с аспарагиновокислым и глютаминовокислым натрием.

Е. Рубан

Stoker B. A. D., Krauss M. R., Mac Leod C. M. **Quantitative experiments on pneumococcal transformation.** (Количественные исследования превращения пневмококков). J. Path. Bact., v. 66, pp. 330—331, 1953.

Авторы предложили новую методику определения количества клеток гладкой формы пневмококка, возникающих в результате воздействия дезоксирибонуклеиновой кислоты (ДНК) на культуру складчатой формы пневмококка. По этой методике клетки бескапсульного складчатого штамма пневмококка R-36NC, полученные из гладкого штамма пневмококка типа II, засевались в бульон, содержащий плевральную жидкость, и обрабатывались препаратом ДНК, полученной из гладкого штамма пневмококка типа III. Затем различные разведения суспензии пневмококков, предварительно обработанной дезоксирибонуклеазой, чтобы предотвратить дальнейший процесс превращения, через определенные промежутки времени вносились в бульон, содержащий анти-R-агглютинины, так как известно, что в этом случае клетки складчатой формы образуют крупные сгустки и быстро оседают на дно, давая возможность развиваться возникшим клеткам гладкой формы, даже если количество последних чрезвычайно мало. Этот метод позволяет определить примерное количество клеток гладкой формы, возникающих за любой промежуток времени опыта.

Найдено, что скорость превращения сильно варьирует в зависимости от времени предварительной инкубации клеток складчатой формы (период сенсибилизации). Оптимальной является четырехчасовая инкубация. При воздействии минимальными количествами ДНК количество образующихся клеток гладкой формы резко возрастает, если скопления клеток складчатой формы «разбить» на отдельные клетки. Авторы исследовали воздействие различных количеств ДНК, добавлявшихся к суспензии «разбитых» сенсибилизированных клеток, на процесс превращения. Найдено, что через 30 минут воздействия ДНК «число превращения», т. е. количество возникших клеток гладкой формы, прямо пропорционально количеству внесенной ДНК. Однако при достижении определенной концентрации ДНК «число превращений» становится постоянным и равным примерно 1% от общего числа клеток. Поэтому авторы считают, что превращение клетки вызывается воздействием одной частицы ДНК. Авторы указывают, что 0,4 γ ДНК вызывает превращение 240 тыс. клеток. Отсюда, экстраполируя, они получили, что для превращения одной клетки требуется $1{,}7 \times 10^{-6}$ γ ДНК. В опытах авторов, однако, требовалась более высокая концентрация ДНК, но они считают, что не достигли оптимальных условий опыта. Исследовалась также скорость действия ДНК. Найдено, что единичные клетки гладкой формы возникают уже через 30 секунд воздействия ДНК. Максимальная же скорость превращения достигается через 20—30 минут воздействия.

Ю. Карасевич

Giri K. V., Narasimha Rao P. L., Saroja K., Venkataraman R. **Enzymatic synthesis of oligosaccharides by Penicillium chrysogenum Q-176.** (Энзиматический синтез олигосахаров Penicillium chrysogenum Q-176). Naturwiss., v. 18, S. 484—485, 1953.

Изучалось воздействие клеточного сока Penicillium chrysogenum на некоторые сахара. Гриб выращивался в течение шести дней при 25° на среде Джервиса и Джонсона с различными сахарами. Мицелий тщательно отмывался от среды и растирался с кварцевым песком, после чего оставлялся под толуолом на 18 часов при температуре +4° для автолиза. После центрифугирования прозрачная жидкость использовалась как источник ферментов гриба. В экспериментальные сосуды вносилось 2 мл 1%-ного раствора сахара, 2 мл M/5 ацетатного буфера (pH-5,0) и 1 мл клеточного сока. Через определенные промежутки времени из сосуда отбирались пробы. Ферменты разрушались нагреванием. Образовавшиеся углеводы определялись методом циркулярной бумажной хроматографии. Найдено, что мальтоза переходит в изомальтозу, а кроме того образует два трисахарида, один из которых идентифицирован как мальтотриоза. Образуется также один высший сахарид. Авторы считают, что ферменты клеточного сока синтезируют эти соединения из мальтозы. Параллельно идет гидролиз, в результате чего образуется глюкоза. Изомальтоза образуется также, когда источником углеводов служит сахароза. Авторы наблюдали частичное превращение арабинозы в сахар, идентифицированный как глюкоза.

Ю. Карасевич

Sowden J. C., Frankel S., Moore B. H., McClary J. E. **Utilisation of C^{14} d-glucose by Torula utilis-yeast.** (Использование меченой d-глюкозы дрожжами Torula utilis). J. Biol. Chem., v. 206, pp. 547—557, 1954.

Проводилось определение радиоактивности различных продуктов метаболизма у дрожжей T. utilis, культивировавшихся на синтетической среде, где единственным источником углерода была глюкоза, содержащая радиоактивный углерод C^{14} в первом положении. Определялась активность *d*-маннозы, полученной в результате гидролиза дрожжевого маннана, а также активность ряда продуктов гидролиза нуклеиновых кислот. Обнаружено, что после тщательной очистки *d*-манноза не обладает радиоактивностью.

Авторы считают, что биосинтез маннозы осуществляется в результате перекомбинации фрагментов молекулы глюкозы, не содержащих радиоактивный углерод. Авторы не отрицают возможности другого пути биосинтеза, в результате которого образуется радиоактивная манноза, что было показано Гилвардом для Saccharomyces cerevisiae. Среди продуктов гидролиза нуклеиновых кислот радиоактивность обнаружена у следующих соединений: аденин, адениловая кислота, гуаниловая кислота, гуанин, цитидиловая кислота, цитозин, уридиловая кислота, урацил, рибоза. В этом ряду радиоактивность убывает. Наличие лишь минимальной радиоактивности у *d*-рибозы показывает, что основной путь ее образования в условиях опыта лежит через декарбоксилирование и изомеризацию 6-фосфоглюконовой кислоты.

Ю. Карасевич

Hinz C. F., Harris J. O. **The effect of certain vitamin K compounds upon the respiration of Saccharomyces cerevisiae.** (Действие производных витамина К на дыхание Saccharomyces cerevisiae). Arch. Biochem. Biophys., v. 48, pp. 261—266, 1954.

Изучалось влияние некоторых производных нафтохинона на интенсивность дыхания и брожения покоящейся клеточной суспензии дрожжей Saccharomyces cerevisiae. Использовалась манометрическая методика. Найдено, что 2-метил-1,4-нафтохинон (витамин K_3) и 2-метил-4-аминонафтол-гидрохлорид (витамин K_5) действуют угнетающе как на скорость потребления кислорода, так и на скорость выделения углекислоты. Угнетающее действие наблюдается уже при концентрации этих соединений, равной 60—90 μг/мл, и достигает максимума при концентрации 200—500 μг/мл. Выделение углекислоты и в аэробных и в анаэробных условиях тормозится сильнее, чем потребление кислорода. Дифосфорный эфир витамина K_3 (калиевая соль 2 метил-1,4-нафтогидрохинондифосфорной кислоты) даже в концентрации 600 μ/мл почти не оказывает тормозящего действия на процессы дыхания и брожения. Авторы считают, что фосфатные группировки в условиях опыта прочно соединены с молекулой витамина K_3 и блокируют его тормозящее действие. Проверялось также утверждение Тупера, что витамин K_3 тормозит гликолиз, угнетающе действуя на начальные реакции фосфорилирования молекулы сахара. Авторы исследовали окисление кальциевой соли фруктозо-1,6-дифосфата, пирувата натрия и этилового спирта. Во всех случаях наблюдалось отчетливое торможение окисления.

Ю. Карасевич

Jacobsson B. **Kvartära ammoniumsalter som desinfektionsmedel. III. Cetylpyridiniumklorid.** (Четвертичные аммонийные соединения как антисептики. III. Цетилпиридиний хлорид). Svensk Bryggeritidskrift, v. 67, No. 9, pp. 297—303, и No. 11, pp. 362—372, 1952.

Антисептические свойства цетилпиридиний хлорида были проверены на дрожжах Saccharomyces cerevisiae var. ellipsoideus, Sacch. cerevisiae var. turbidans, Sacch. ellipsoideus, Sacch. odessa, Sacch. turbidans, лактобациллах и пивных сарцинах.

Цетилпиридиний хлорид в разведении $1:10^5$ в значительной степени подавлял жизнедеятельность вышеназванных организмов; жизнеспособными оставались лишь 0,001% клеток.

Некоторые дикие дрожжи оказались более чувствительны к действию этого антисептика, чем пивные. Споры диких дрожжей переносили концентрацию цетилпиридиний хлорида даже 1 : 5000.

Цетилпиридиний хлорид действует очень быстро (за несколько минут) в пределах температуры от 2° до 25°, независимо от pH и жесткости воды.

Н. Вербина

Blanchard F. A., Diller V. M. and Kersten H. **Effect of Soft X-rays on Aureomycin.** (Действие мягких Х-лучей на ауреомицин). The Ohio Journal of Science, v. 53, No. 6, pp. 363—367, 1953.

Водные растворы ауреомицина жидкие и замороженные, а также сухие кристаллы антибиотика подвергались действию мягких Х-лучей в количестве 25 000 r (рентгенов)

в минуту. Степень падения антибиотической активности препарата испытывалось на культурах Bac. cereus. Водный раствор ауреомицина, содержащий 100 *мг* вещества в 1 мл, совершенно терял свои антибиотические свойства через 3—4 минуты облучения. Не наблюдалось заметных изменений активности при облучении сухих кристаллов ауреомицина в течение 15 минут и замороженных водных растворов в течение 20 минут.

Е. Рубан

Harder R. u. Oppermann A. **Ueber antibiotische Stoffe bei den Grünalgen Stichococcus bacillaris und Protosiphon botryoides.** Arch. Mikrob., Bd. 19 (4), S. 398—401, 1953. (Об антибиотических веществах у зеленых водорослей).

Приводятся результаты экспериментального исследования бактериостатического действия культуральных жидкостей абсолютно чистых культур Stichococcus bacillaris Naeg. 397/1 b и Protosiphon botryoides 731 на развитие Bac. mycoides, Bact. coli, Pseudomonas pyocyanea и Staphylococcus aureus.

Водоросли культивировались в течение 3 недель на среде Spoeher ($MgSO_4 \cdot 7H_2O$ — 4,9 г; KH_2PO_4 — 2,41 г; KNO_3 — 2,53 г; $FeSO_4 \cdot 10H_2O$ — 0,0013 г на 1000 мл. бидестиллированной воды) при искусственном освещении, постоянном продувании и pH-5,8.

Культуральные жидкости, сгущенные до $^1/_{30}$ объема в вакууме, обладали антибиотическим действием против грамположительных и грамотрицательных бактерий, причем раствор от Stichococcus обладал более сильным действием.

Сгущенный при тех же условиях стерильный питательный раствор никакого влияния на рост бактерий не оказывал.

На Ps. pyocyanea культуральные жидкости от обеих водорослей, после некоторого начального угнетения, оказывали стимулирующее рост действие. Наиболее сильное бактериостатическое действие обнаружено на Bac. mycoides при действии культуральной жидкости от Stichococcus.

Авторы считают, что бактериостатическое действие не связано с подкислением среды, получающимся в результате сгущения культуральной жидкости, а предполагают, что основным действующим началом являются ненасыщенные жирные кислоты. Однако они не отрицают возможности образования в культурах водорослей и других веществ, обладающих подобными же антибиотическими свойствами.

Н. Заварзина

Haddad S. A. and Lindegren C. C. **A method for determining the weight of an individual yeast cell.** (Методика определения веса одной дрожжевой клетки). Appl. Microb., v. 1, No. 3, pp. 153—156, 1953.

Вес, а также удельный вес одной дрожжевой клетки могут быть определены экспериментальным путем на основании закона Стокса для падающих тел в вязких жидкостях. Определение скоростей падения отдельных дрожжевых клеток, находящихся во взвешенном состоянии в 1%-ном растворе глюкозы с известной вязкостью и удельным весом, производилось в гемацитометрической камере. Эта камера помещалась в вертикальном положении и постепенно скользила вниз по рамке, в которую она была вделана.

Скорость падения отдельных дрожжевых клеток фиксировалась при помощи движущейся рисовальной камеры, соединенной со скользящей вниз гемацитометрической камерой.

В результате опытов было найдено, что удельный вес одной клетки в среднем равен 1,087 г/мл $\pm$ 0,026, а вес одной клетки соответствует в среднем $7{,}922 \cdot 10^{-11}$ г $\pm$ $\pm$ $3{,}188 \cdot 10^{-11}$.

Сопоставляя значения веса отдельных клеток с их объемами, определяемыми независимо друг от друга, авторы приходят к выводу, что этот метод определения веса одной дрожжевой клетки дает высокую точность.

Н. Вербина

Goetz A., Gilmon R. H. and Rawn A. M. **Application of molecular filter membranes to specific problems in water analyses.** (Применение молекулярных фильтров для специальных задач при анализах воды). J. Amer. Water Works Ass., v. 44, № 6, pp. 471—483, 1952.

Предлагаемая методика была применена авторами для специальных анализов воды и выявления ареала распространения Escherichia coli и Aerobacter. aerogenes в водах Великого океана.

Использованный молекулярный фильтр состоял из однородной целлюлозной мембраны, совершенно лишенной фибриллярных структур, с равномерной пористостью

(80—90%) и стабильной влагоемкостью. Авторы рекомендуют пользоваться при анализах воды с малым содержанием микроорганизмов большими мембранами (10 см²), позволяющими в короткое время профильтровать литр воды.

Для проращивания бактерий на фильтрах применялись подкладки из фильтровальной бумаги, пропитанные соответствующими питательными средами и затем обезвоженные.

Первая подкладка *A* из тонкой фильтровальной бумаги пропитывалась определенным количеством питательного раствора. Вторая подкладка *B* из более толстой фильтровальной бумаги пропитывалась ингибитором, краской или вторым питательным раствором.

После фильтрования пробы подкладки *A* и *B* складывались плотно с мембранным фильтром и все вместе погружались, при соблюдении условий стерильности, в чашку Петри, на дно которой было налито немного воды. Вода, поднимаясь в силу капиллярности через фильтры *A* и *B*, растворяла питательные вещества и обогащала ими мембранный фильтр.

Так как инкубация на судне затруднительна, то мембранные фильтры, сразу же после фильтрации проб, накладывались на подкладки *A* и *B* и оставлялись до возвращения в лабораторию в течение 3—7 часов при температуре наружного воздуха.

Опыт показал, что помещение фильтров в термостат на 38° немедленно после фильтрования или после 3—7 часов не изменяет конечного количества прорастающих колоний.

Сравнение количества колоний в пробе при посеве на чашки с МПА и при проращивании на мембранных фильтрах дало близкие результаты.

Для обнаружения Esch. coli и Aerobact. aerogenes подкладки *A* и *B* были пропитаны: A — обогащенной средой Эндо, а B — эозином + метиленовая голубая (EMB).

Стерилизация воронки на корабле проводилась в специальном аппарате над пламенем метилового спирта в течение 10 секунд, стерилизующим агентом являлся образующийся при неполном сгорании формальдегид ($2CH_3OH + O_2 \rightarrow 2HCOH + 2H_2O$). Стерилизация воронки на корабле между фильтрациями серии образцов оказалась по наблюдениям авторов излишней.

Н. Заварзина

Buswell A., Shiota T., Lawrence N., a Meter T. **Laborotary studies on the kinetics of the growth of Nitrosomonas with relation to the nitrification phase of the BOD test** (Лабораторные исследования кинетики роста Nitrosomonas в связи с нитрификацией и биологическим потреблением кислорода) Appl. Microbiology, v. 2, № 1, pp. 21—25, 1954.

В чистых культурах Nitrosomonas, выделенных из сточных вод, определялось число клеток методом разведений и количество нитритов колориметрированием с реактивом Грисса. Установлено, что при оптимальных условиях (концентрация сернокислого аммония по азоту 5‰, pH 8,0—8,5 и 32°) отношение постоянной роста Nitrosomonas (Кр) к постоянной накопления нитритов (Кп) представляет собой также постоянную величину, т. е. что количество нитритов возрастает пропорционально числу клеток Nitrosomonas.

Отношение Кр/Кп зависит от температуры в пределах от 10 до 37°. Q_{10} для нитритов = 1,86, для числа клеток = 1,70. Факторами, влияющими на накопление нитритов и на размножение Nitrosomonas, являются содержание кислорода, аммония и органического вещества в среде. Оптимальным количеством аммония является 5‰ по азоту, снижение содержания растворенного кислорода в среде ниже 6‰ тормозит нитрификацию. Пептон и дрожжевой экстракт тормозит нитрификацию в количестве 1‰, глюкоза не оказывала вредного действия на процесс в концентрации 200‰.

Авторы считают, что зная количества нитритов, можно судить и о численности нитрификаторов не только в лабораторных условиях, но и в естественной среде (речная вода), если принять во внимание, температуру, содержание кислорода и органических веществ.

Е. Рубан

КРИТИКА И БИБЛИОГРАФИЯ

Использование микроорганизмов для повышения урожайности сельскохозяйственных культур и плодородия почвы. Труды Всесоюзного научно-исследовательского института сельскохозяйственной микробиологии, XII, 1953. Сельхозгиз.

Регулирование микробиологических процессов в почве с целью поднятия ее плодородия и повышения урожайности сельскохозяйственных растений — важнейшее направление в области почвенной микробиологии. Достижения в этом направлении пока еще незначительны. Поэтому соответствующие исследования заслуживают несомненного внимания.

В этой связи представляет интерес сборник трудов Всесоюзного института сельскохозяйственной микробиологии (т. XIII), вышедший в 1953 г.

Сборник содержит 23 статьи. Наиболее многочисленную группу составляют статьи, касающиеся бактериальных удобрений.

В статье И. И. Самойлова и 7 соавторов подведены итоги широкой проверки эффективности действия фосфоробактерина, проведенной в 1952 г. на полях колхозов и совхозов в 55 республиках и областях Советского Союза, а также в 63 научно-исследовательских учреждениях. Полученные данные показывают, что этот препарат дает значительное повышение урожайности различных сельскохозяйственных культур, особенно зерновых и картофеля, на богатых органическим веществом почвах. Судя по приведенным в статье материалам, можно ожидать широкого внедрения фосфоробактерина в колхозно-совхозное производство в ближайшие годы. Вместе с тем необходима дальнейшая исследовательская работа над этим препаратом (разработка более точной методики количественного учета фосфорных бактерий (Bac. megatherium) в почве, выяснение их взаимоотношений с другими почвенными микроорганизмами, получение активных местных штаммов и др.). Авторы называют препарат то «фосфорно-бактериальным удобрением», то «фосфоробактерином». Последний термин, как более короткий, заслуживает предпочтения.

В настоящее время актуальными являются вопросы усовершенствования технологии изготовления бактериальных удобрительных препаратов. В двух статьях (Л. М. Доросинского, Г. В. Лопатиной и др.) уточняются условия размножения клеток азотобактера и клубеньковых бактерий при применении глубинного способа выращивания этих бактерий. Как и следовало ожидать, на размножение бактерий оказывают влияние: степень аэрации жидкости, состав питательной среды, особенности взятых штаммов, предварительная подготовка культур к режиму продувания воздуха и т. д. В оптимальных условиях происходит обильное размножение бактерий, причем вырастающий азотобактер обладает хорошей азотфиксирующей способностью. К сожалению, не указано, как влияет глубинное выращивание на активность и вирулентность клубеньковых бактерий.

Удлинение сроков хранения бактериальных удобрений имеет большое значение. В статье С. П. Норкиной показано, что высушивание клеток азотобактера в вакууме при 35° приводит к быстрому и резкому падению титра. В присутствии наполнителей, отнимающих воду (мел и др.), азотобактер лучше сохраняет жизнеспособность. Некоторые клетки в высушенном состоянии сохраняются свыше трех лет. Это представляет биологический интерес, но не имеет практического значения, так как титр остающихся жизнеспособных клеток очень незначителен. Статья правильно ориентирует читателя, говоря о том, что еще не найден удовлетворительный способ длительного хранения азотобактерина. Вряд ли можно согласиться с появившимся указанием (Вопросы агротехники, вып. XV, стр. 125, 1953), что сухой гелевый препарат является решением задачи.

Статья Н. М. Лазаревой касается вопроса о значении местных штаммов бактерий. Еще раз показано, что некоторые местные штаммы клубеньковых бактерий (клевера) эффективнее производственных штаммов. Вместе с тем, с полным основанием отмечается, что далеко не всегда местные штаммы по своей эффективности превосходят производственные штаммы.

Из статьи Ю. С. Бородулиной и других видно, что в подзолистой суглинистой почве внесение извести приводит к появлению активных рас клубеньковых бактерий не только в почве, но и в клубеньках клевера. Остается неясным, происходит ли под влиянием известкования изменение активности этих бактерий в почве, а уж затем расы с повышенной активностью проникают в растение или же их активность повышается в клубеньках.

В соответствии с уже имеющимися в литературе данными в статье А. М. Шелоумовой показано положительное влияние гранулированных удобрений на развитие азотобактера и значение состава и реакции гранул на выживаемость в них этой бактерии.

Е. Х. Ремпе сообщает о содержании в оболочке семян некоторых бобовых растений (клевер, люцерна) веществ, угнетающих рост клубеньковых бактерий. Действие этих веществ может быть снижено путем предварительного вымачивания семян в молоке или при обработке семян взвесью клубеньковых бактерий в сепарированном молоке. Возникает вопрос, почему автор называет обнаруженные им в семенах веществах бактерицидными. Приведенный материал дает основание говорить лишь об угнетающем действии этих веществ на клубеньковые бактерии.

В работе Т. П. Черник «О свойствах Bact. radiobacter» (в определителе Н. А. Красильникова эта бактерия отнесена к роду Pseudomonas) углубляется характеристика некоторых физиологических и культуральных свойств этой распространенной в ризосфере бактерии. Представляет интерес способность некоторых ее штаммов повышать урожай льна и пшеницы и снижать зараженность растений фузариозом.

Исследование Е. Ф. Березовой и сотрудников говорит о том, что микрофлора ризосферы многолетних трав в чистом посеве отличается количественно и качественно от ризосферной микрофлоры травосмеси.

Четыре статьи сборника (Н. М. Лазарева, В. Н. Былинкиной и др.) посвящены микробиологическим процессам, протекающим в черноземных почвах. Авторы приходят к заключению, что величина урожаев на этих почвах находится в прямой связи с активностью микроорганизмов, перерабатывающих перегной. В ряде черноземных почв внесение азотобактера по фону фосфора приводит к хорошему развитию этой бактерии, участвующей в освоении инертных форм перегноя. Активная микрофлора содержится и в подпахотном слое (35—50 см), который поэтому имеет значение для корневого питания растений. Этим черноземы отличаются от дерново-подзолистой почвы, где деятельность микроорганизмов в этом горизонте практически прекращается. Внесение органических удобрений и орошение вызывают количественные и качественные изменения микрофлоры почвы. Если, по данным Е. Н. Мишустина и В. П. Прокошева, длительное применение удобрений неблагоприятно влияет на микрофлору подзолистых почв, то на черноземах это, наоборот, приводит к увеличению количества и повышению активности микроорганизмов.

В настоящее время всеми признано участие микроорганизмов в образовании перегноя и создании почвенной структуры. Однако остается невыясненным, из каких исходных веществ образуется перегной, какие условия необходимы для его формирования и какие микроорганизмы играют в этом основную роль. Помещенные в сборнике статьи Н. М. Лазарева и Е. А. Никитиной, В. Н. Бересневой и З. Ф. Ляпшиной также не разрешают этих вопросов. Зато в указанных статьях содержатся данные о связи структуры почвы с процессами образования и разрушения перегноя, о смене одних групп микроорганизмов другими группами при разложении растительных остатков и о факторах, способствующих образованию из перегноя продуктов питания растений.

Прежние работы Л. М. Доросинского и Н. М. Лазарева ставили под сомнение возможность усвоения некоторыми зелеными растениями минеральных соединений без участия почвенных микроорганизмов. В статье этих исследователей, помещенной в сборнике, показано, что в условиях стерильных водных культур растение (овес) может усваивать минеральные вещества. Внесение почвенной микрофлоры приводит к улучшению или ухудшению роста растения в зависимости от степени аэрации жидкой среды. В этих же опытах подтверждается наличие корневых выделений в стерильных культурах растений, что, как известно, пытается оспаривать К. И. Рудаков.

Ф. Ю. Гельцер, Е. А. Воронкова и Ю. М. Возняковская посвятили свои статьи способам выделения чистых культур микоризных грибов, вопросу о значении микоризации желудей и др.

Ценность рассматриваемого сборника — в том, что он содержит не умозрительные положения, а факты, в которых нуждается почвенная микробиология.

Л. И. Рубенчик

БИБЛИОГРАФИЯ ИНОСТРАННОЙ ЛИТЕРАТУРЫ (1952—1953 гг.)

(Продолжение, см. т. XXIII, № 4)

Hofmann K. and Sax S. M. The chemical nature of the fatty acids of Lactobacillus casei. J. Biol. Chem., 1953, vol. 205, No. 1, p. 55—64.

Hofman T. The biochemistry of the nitrifying organisms. 3. Composition of Nitrosomonas. Biochem. J , 1953, vol. 54, No. 2, p. 293—294.

Hofman T. and Lees H. The biochemistry of the nitrifying organisms. 2. The free-energy efficiency of Nitrosomonas. Biochem. J., 1952, vol. 52, No. 1, p. 140—142.

Hofman T. and Lees H. The intermediary metabolism of Nitrosomonas. Biochem. J., 1952, vol. 52, No. 4, p. XX.

Hofman T. and Lees H. The respiration of Nitrosomonas. Biochem. J., 1952, vol. 52, No. 4, p. XIX.

Hofman T. and Lees H. The biochemistry of the nitrifying organisms. 4. The respiration and intermediary metabolism of Nitrosomonas. Biochem. J., 1953, vol. 54, p. 579—582.

Hoffmann-Ostenhof O. und Weigert W. Uber die mögliche Funktion des polymeren Metaphosphats als Speicher energiereichen Phosphats in der Hefe. Naturwiss., 1952, Jg. 39, H. 13, S. 303—304.

Hollis J. P. An approach to the physiology of toxin formation in microorganisms. Phytopath., 1953, vol. 43, No. 7, p. 355—359.

Holt C. Zur Frage der Bakterienwachstumsförderung durch Antibiotika. Deutsch. Med. Wochenschr., 1952, Bd. 77, H. 11, S. 341—342.

Holzer H. Zur Penetration von Orthophosphat in lebende Hefezellen. Biochem. Ztschr., 1953, Bd. 324, H. 2, S. 144—155.

Holzer H. und Holzer E. Bestimmung stationärer Triosephosphatkonzentrationen in lebender Hefe. Ein Beitrag zum Mechanismus des Pasteur-Effektes. Hoppe-Seyler's Ztschr. physiol. Chem., 1953, Bd. 292, H. 3—5, S. 232—239

Horn M. J., Blum A. E., Gersdorff C. E. F. and Warren H. W. Sources of error in microbiological determinations of amino acids on acid hydrolysates. I. Effect of humin on amino acid values. J. Biol. Chem., 1953, vol. 203, No. 2, p. 907—914.

Howell A. and Fitzgerald R. J. The production of acid phosphatase by certain species of Actinomyces. J. Bact., 1953, vol. 66, No. 4, p. 437—443.

Hugh R. and Leifson E. The taxonomic significance of fermentative versus oxidative metabolism of carbohydrates by various gram negative bacteria. J. Bact., 1953, vol. 66, No. 1, p. 24—26.

Hughes D. E. and Williamson D. H. The deamidation of nicotinamide by bacteria Biochem. J., 1953, vol. 55, No. 5, p. 851—856.

Hughes S. B. Acidic metabolic products of Hansenula anomala. Mycologia, 1952, vol. 44, No. 6, p. 736—746.

Husain S. S. and Hardin M. M. Influence of carbohydrate and nitrogen sources upon lipid production by certain yeasts. Food Res., 1952, vol. No. 1, p. 60—66.

Hutchison D. J. and Burchenal J. H. Utilization of pteroylglutamic acid antagonists for growth by a strain of Streptococcus faecalis. Proc. Soc. Exp. Biol. Med., 1952, vol. 81, No. 1, p. 251—254.

Hutton W. E. and Zobell C. E. Production of nitrite from ammonia by methane oxidizing bacteria. J. Bact., 1953, vol. 65, No. 2, p. 216—219.

Hyndman L. A., Burris R. H. and Wilson P. Properties of hydrogenase from Azotobacter vinelandii. J. Bact., 1953, vol. 64, No. 5, p. 522—531.

Jacob A., Hiller J. und Strauss E. Zur Analyse radiobiologischer und cytostatischer Effecte an Bakterienpopulationen mit Radiophosphor. Strahlentherapie, 1953, Bd. 89, H. 4, S. 600—605.

Jacob F. Influence du régime carbone sur le développement des bactériophages. Ann. Inst. Pasteur, 1953, t. 84, No. 1, p. 254—264.

Jacob F., Siminovitch L. et Wollman E. Comparaison entre la biosynthèse induite des bactériophages et de la colicine et entre leur mode d'action. Ann. Inst. Pasteur, 1953, t. 84, No. 1, p. 313—318.

Jacox R. F. Streptococcal β-glucuronidase. J. Bact., 1953, vol. 65, No. 6, p. 700—705.

Jakoby W. B., Schatz A., Hutner S. H. and Weber M. M. Interchangeability of quinolinic and nicotinic acids as growth factors for a pseudomonad oxidizing nicotinic acid. J. gen. Microbiol., 1952, vol. 6, No. 3—4, p. 278—285.

Jefferson W. E. and Foster J. W. Tracer studies of formate-metabolism in fungi. J. Bact., 1953, vol. 65, No. 5, p. 587—592.
Jensen J. und Thofern E. Chlorhämin (Ferriporphyrinchlorid) als Bakterienwuchsstoff. I. Ztschr. Naturforsch., 1953, Bd. 8b, H. 10, S. 599—603.
Jensen J. und Thofern E. Chlorhämin (Ferriporphyrinchlorid) als Bakterinwuchsstoff. II. Zur Synthese ber Hämatinfermente. Ztschr. Naturforsch., 1953, Bd. 8b, H. 10, S. 604—607.
Jensen J. und Thofern F. Chlorhämin (Ferriporphyrinchlorid) als Bakterienwuchsstoff. III. Competitive Hemmung der Hämatinfermentsynthese. Ztschr. Naturforsch., 1953, Bd. 8b, H. 11, S. 697.
Jermyn M. A. Factors influencing the paper chromatography of some enzymes of Aspergillus oryzae and related enzymes. Aust. J. Biol. Sci. 1953, vol. 6, No. 1, p. 77—97.
Jermyn M. A. Fungal cellulases. I. General properties of unpurified enzyme preparations from Aspergillus oryzae. Austr. J. Sci. Res., Ser. B., 1953, vol. 5, No. 4, p. 409—432.
Jermyn M. A. Fungal cellulases. II. The complexity of enzymes from Aspergillus oryzae that split β-glucosidic linkages and their partial separation. Austr. J. Sci. Res., Ser. B., 1953, vol. 5, No. 4, p. 433—443.
Jermyn M. A. Fungal cellulases. III. Stachybotrys atra: growth and enzyme production on non-cellulosic substrates. Austr. J. Biol. Sci., 1953, vol. 6, No. 1, p. 48—69.
Jermyn M. A. and Thomas R. Transferase activity of the β-glucosidases of Aspergillus oryzae. Austr. J. Biol. Sci., 1953, vol. 6, No. 3, p. 70—76.
Johansson K. R. Response to and assay of vitamin B_{12} by a mutant of Escherichia coli. Proc. Soc. Exp. Biol. Med., 1953, vol. 83, No. 3, p. 448—453.
Johnson B. C. and Cohn E. M. Effect of certain acids of the tricarboxylic acid cycle on the growth of Escherichia coli. J. Bact., 1952, vol. 63, No. 6, p. 735—742.
Johnson G. T. and Gould B. S. Pigment production in certain of the Aspergillus glaucus group. Mycologia, 1953, vol. 45, No. 2, p. 172—193.
Johnstone J. H. and Mitchell I. L. S. The nature of the inhibition of yeast fermentation by D-glucosone. Biochem. J., 1953, vol. 55, No. 2, p. XVII.
Joklik W. K. Intracellular growth of phages T_1 and T_2. Brit. J. Exp. Path., 1952, vol. 33, No. 4, p. 359—367.
Jones A. S. The isolation of bacterial nucleic acids using cetyltrimethylammonium bromide (Cetavlon). Biochim. Biophys. Acta, 1953, vol. 10, No. 4, p. 607—612.
Jones A. W. and Holtman D. F. Synthesis of glutamic acid and alanine by Salmonella pullorum. J. Bact., 1953, vol. 66, No. 3, p. 147—149.
Jones J. D., Smith B. S. W. and Evans W. C. Homogentisic acid an intermediate in the metabolism of tyrosine by the aromatic ringsplitting microorganisms. Biochem. J., 1952, vol. 51, No. 1, p. XI—XII.
Jones L. W. and Clifton C. E. Metabolism and nutrition of Clostridium feseri. J. Bact., 1953, vol. 65, No. 5, p. 560—564.
Jordan D. C. Transamination in cell-free extracts of effective and parasitic rhizobia. J. Bact., 1953, vol. 65, No. 2 p. 220.
Kalan E. and Ceithaml. J. Synthesis of methione in E. coli. Federation Proc., 1953, vol. 12, No. 1, part 1, p. 228.
Kalckar H. M., Braganca B., Munch-Petersen A. Uridyl transferases and the formation of uridine diphosphogalactose. Nature. Lond., 1953, vol. 172, No. 4388, p. 1038.
Kameda Y., Toyoura E., Yamazoe H., Kimura Y. and Yasuda Y. Hydrolysis and metabolism by soil bacteria of benzoyl derivatives of D-and L-forms of some amino-acids. Nature, Lond., 1952, vol. 170, No. 4334, p. 888—889.
Kanazir D. et Errera M. Teneur en adénosine triphosphate (ATP) de E. coli après irradiation U. V. Biochim. Biophys. Acta, 1953, vol. 11, No, 3, p. 451—452.
Kaplan N. O. and Ciotti M. M. Competitive inhibition of hydroxylamine on alcohol dechydrogenase. J. Biol. Chem., 1953, vol. 201, No. 2, p. 785—794.
Kaplan N. O., Colowick S. P., Neufeld E. F. and Ciotti M. M. Pyridine nucleotide transhydrogenase. IV. Effect of adenylic acid α on the bacterial transhydrogenases. J. Biol. Chem., 1953, vol. 205, No. 1, p. 17—30.
Kaplan N. O. Colowick S. P., Zatman L. J. and Ciotti M. M. Pyridine nucleotide transhydrogenase. V Exchange reactions studied with C^{14}. J. Biol. Chem., 1953, vol. 205, No. 1, p. 31—44.
Kasai G. J. Growth response of microorganisms to vitamins at different temperatures. J. Infect. Dis., 1953, vol, 92, No. 1, p. 58—69.
Katagiri M. and Sato R. Accumulation of phenylalanine by a phenylalanineless mutant of Escherichia coli. Science, 1953, vol. 118, No. 3061, p. 250—251
Katchalski E., Bichowski-Slomanitzki L. and Volcani B. E. The action of some water-soluble poly-α-amino acids on bacteria. Biochem. J., 1953, vol. 55, No. 4, p. 671—680.
Katz J., Lieberman I. and Barker H. A. Acetylation of amino acids by enzymes of Clostridium kluyveri. J. Biol. Chem. 1953, vol. 100, No. 1, p. 417—429.
Katz J. Lieberman I. and Barker H. A. Formation of propionyl-butyryl-, and

other acylglycines by enzymes of Clostridium kluyveri. J. Biol. Chem., 1953, vol 200, No. 1, p. 431—441.
Katzman P. A., Kinsella R. A. and Doyle M. L. The production of bacterial β-glucuronidase and its use for the hydrolysis of steroid glucuronides. Science, 1952, vol. 116, No. 3020, p. 524.
Katznelson H. and Lochhead A. G. Growth factor requirements of halophilic bacteria. J. Bact., 1952, vol. 64, No. 1, p. 97—103.
Katzelson H. and Tanenbaum S. W. Pattern of glucose oxidation by Acetobacter melanogenum. Federation Proc., 1953, vol. 12, No. 1, part 1, p. 470.
Katznelson H., Tanenbaum S. W. and Tatum E. Glucose, gluconate, and 2-ketogluconate oxidation by Acetobacter melanogenum. J. Biol. Chem., 1953, vol. 204, No. 1, p. 43—60.
Kaufmann W. Untersuchungen über den Energiehaushalt der Hefezelle und die Ökonomie einiger Energiestoffwechseltypen anderer Mikroorganismen. Arch. Microbiol., 1952, Bd. 17, H. 4, S. 319—352.
Kaye R. C. and Stonehill H. I. The polarigraphic reduction of some natural and artificial hydrogen-carriers in bacterial enzyme systems. J. Chem. Soc. (London), 1952, No. 8, p 3244—3247.
Kearney E. B. and Singer T. P. Enzymic transformations of L-cysteinesulfinic acid. Biochim. Biophys. Acta, 1953, vol. 11, No, 2, p. 276—289.
Kearney E. B. and Singer T. P. The oxidation of cysteinesulfinic and cysteic acids in Proteus vulgaris. Biochim. Biophys. Acta, 1953, vol. 11, No. 2, p. 270—275.
Keilin D. Occurence of haemoglobin in yeast and the supposed stabilization of the oxygenated cytochrome oxidase. Nature, Lond., 1953, vol. 172, No. 4374, p. 390—393.
Keilin D. and Nartree E. F. Cytochrome oxidation and the pasteur enzyme. Nature, Lond., 1953, vol. 171, No. 4349, p. 413—416.
Keilin D. and Tissieres A. Haemoglobin in moulds: Neurospora crassa and Penicillium notatum. Nature, Lond., 1953, vol. 172, No. 4374, p. 393—394.
Kellenberger E. Les transformations des nucleoïdes de Escherichia coli provoguees par les rayons ultra-violets. Exper., 1952, vol. 8, fasc. 7, p. 263—265.
Kelman A. The influence of source and level of nitrogen on growth of Pseudomonas solanacearum in culture. Phytopath., 1953, vol. 43, No, 5, p. 291.
Kelner A. Growth, respiration and nucleic acid synthesis in ultra-violet-irradiated and in photoreactivated Escherichia coli. J. Bact., 1953, vol. 65, No. 3, p. 252—262.
Kerr S. E. and Chernigoy F. On the biosynthesis of ribonucleic acid purines and their interconversion in yeast. J. Biol. Chem., 1953, vol. 200, No. 2, p. 887—894.
Khouvine Y., Barbier M. et Wyssmann L. Acide ribonucléique de Mycobactérium phlei. C. R. Acad. Sci., Paris, 1953, t. 236, No. 21, p. 2118—2119.
Khouvine Y. et Robichon-Szulmajster H. Acides ribonucléiques de types D, D(B) et (D1) de quelques levures. Bull. Soc. Chim. biol. Paris, 1952, t. 34, No. 11, p. 1056—1062.
Khouvine Y. et Robichon-Szulmajster H. Ribonucléoprotéides de la levure de boulangerie. II. Acides ribonucléiques A, B et C. Bull. Soc. Chim. Biol., Paris, 1952, t. 34, No. 11, p. 1050—1055.
Kiessling K. H. Thiamine triphosphate in bakers' yeast. Nature, Lond., 1953, vol. 172, No. 4391, p. 1187—1188.
Kihara H., McCullough W. G. and Snell E. E. Peptides and bacterial growth. I. Purification of a peptide factor required for growth of Lactobacillus casei. J. Biol. Chem., 1952, vol. 197, No. 2, p. 783—789.
Kihara H. Snell E. E. Peptides and bacterial growth. II. L-alanine peptides and growth of Lactobacillus casei. J. Biol. Chem., 1952, vol. 197, No. 2, p. 791—800.
Kihara H., Klatt O. A. and Snell E. E. Peptides and bacterial growth. III. Utilization of tyrosine and tyrosine peptides by Streptococcus faecalis. J. Biol. Chem., 1952, vol. 197, No. 2, p. 801—807.
King T. E. and Cheldelin V. H. Oxidative dissimilation in Acetobacter suboxydans. J. Biol. Chem., 1952, vol. 197, No. 1, p. 127—133.
King T. E. and Cheldelin V. H. Phosphrylative and nonphosphorylative oxidation in Acetobacter suboxydans. J. Biol. Chem., 1952, vol. 197, No. 1, p. 135—141.
King T. E. and Cheldelin V. H. Sources of energy and the dinitrophenol effect in the growth of Acetobacter suboxydans. J. Bact., 1953, vol. 66, No. 5. 581—584.
Kistner A. On a bacterium oxidizing carbon monoxide. Proc. Kon. Acad. Wetensch., Ser. C., Amsterdam, 1953, vol. 56, No. 4, p. 443—450.
Kita D. A. and Peterson W. H. Forms of phosphorus in the penicillin-producing mold Penicilium chrysogenum Q-176. J. Biol. Chem., 1953, vol. 203, No. 2, p. 861—868.
Kitahara K. and Kurushima M. Diastatic enzyme system of mould. IX. Confirmation of y-amylase. J. Fermentation Technol. (Japan), 1952, vol. 30. No. 2, p. 72—77.
Kitahara K., Obayashi A. and Fukui S. Racemiase I. Cell-free racemiase. Enzymologia, 1952, vol. 15, fasc. 15, p. 259—266.
Klein H. P. The utilization of sucrose by Pseudomonas putrefaciens. J. Bact., 1953, vol. 66, No. 1, p. 120—121.

Klein H. P. and Lipman F. The relationship of coenzyme A to lipide synthesis. I. Experiments with yeast. J. Biol. Chem., 1953, vol. 203, No. 1, 95—100.
Kline L., Pine L., Gunsalus I. C. and Barker H. A. Probable identity of the growth promoting factor for Butyribacterium rettgeri with other biologically-active substances. J. Bact., 1952, vol. 64, No. 4, p. 467—472.
Kluyver A. J., van der Walt J. P. and van Triet A. J. Pulcherrimin, the pigment of Candida pulcherrima. Proc. nat. Acad. Sci., Wash., 1953, vol. 39, No. 7, p. 583—592.
Knight C. A. The nucleic acids of some strains of tobacco mosaic virus. J. Biol. Chem., 1952, vol. 197, No. 1, p. 241—250.
Knox R. and Collard P. The effect of temperature on the sensitivity of Bacillus cereus to penicillin. J. gen. Microbiol., 1952, vol. 6, No. 3—4, p. 369—373.
Koch A. L. Biochemical studies of virus reproduction. XI. Acid-soluble purine metabolism. J. Biol. Chem., 1953, vol. 203, No 1, p. 227—238.
Koch A. L., Putnam F. W. and Evans E. A. Biochemical studies of virus reproduction. III. Purine metabolism. J. Biol. Chem., 1952, vol. 197, No. 1, p. 113—120.
Koch A. L., Putnam F. W. and Evans E. A. The purine metabolism of Escherichia coli. J. Biol. Chem., 1952, vol. 197, No. 1, p. 105—112.
Kocher V. und Sorkin E. Uber das Vorkommen von Vitamin B_{12} in Mycobakterien. Helv. chim. Acta, 1952, vol. 35, fasc. 5, p. 1741—1742.
Kodicek E. and Mistry S. P. The relationship between «Strepogenin» and asparagine. Arch. Biochem. Biophys., 1953, vol. 44, No. 1, p. 30—45.
Kogut M. and Podoski E. P. Oxidative pathways in a fluorescent Pseudomonas. Biochem. J., 1953, vol. 55, No. 5, p. 800—811.
Kondo K. and Tekeda R. Studies on the oxidative bacteria. IV. 2-ketogluconic acid fermentation and nitrogen source. J. Fermentation Technol. (Japan), 1952, vol. 30, No. 3, p. 103—105.
Konetzka W. A., Pelczar M. J. and Gottlieb S. The biological degradation of lignin. III. Bacterial degradation of alpha-conidendrin. J. Bact., 1952, vol. 63, No. 6, p. 771—778.
Kořínek J. and Pokorny V. Excretion of glucides in Agrobacterium radiobacter. Bull. Internatl. Cl. Sci. Math. Nat. et Med. Acad. Tscheques Sci., 1953, Ann. 52, No. 1, p. 73—80.
Korzenovsky M. and Werkman C. H. Bacterial metabolism of arginine. Arch. Biochem. Biophys., 1952, vol. 41, No. 1, p. 233.
Korzenovsky M. and Werkman C. H. Conversion of citrulline to ornithine by cell-free extracts of Streptococcus lactis. Arch., Biochem. Biophys., 1953, vol. 46, No. 1, p. 174—185.
Kourilsky R., Richou R. et Richou H. Reactions diastasiques entre les filtrats du culture de germes différents. C. R. Acad. Sci., Paris, 1953, t. 237, No. 25, p. 1811—1813,
Kourilsky R., Richou R. et M-me R. Richou. Recherches sur les diastases microbiennes. De l'influence de la chaleur sur les propriétés diastasiques des filtrats de culture de Proteus et de Pseudomonas aeruginosa. C. R. Soc. Biol., 1953, t. 147, No. 5—6. p. 401—402.
Kourilsky R., Richou R. et Schlaepfer J. Recherches sur les diastases microbiennes. De l'existence de principes gélationolytiques dans les filtrats de culture de Proteus. C. R. Soc. Biol., 1953, t. 147, No. 1/2, p. 18—19.
Kourilsky R., Richou R., et Schlaepfer J. Recherches sur les diastases microbiennes. De l'influence de la chaleur sur les propriétés gélationlytiques des filtrats de culture du staphylocoque C. R. Soc. Biol., 1953, t. 147, No. 11—12, p. 984—986.
Kozloff L. M. She fate of the intecting virus particle. Exp. cell. Res., 1952, Suppl. 2, p. 367—372.
Kraght A. J. and Starr M. P. Fermentation of galacturonic acid and glucose by a strain of Erwinia carotovora. J. Bact., 1952, vol. 64, No. 2, p. 259—264.
Kraght A. J. and Starr M. P. Pectic enzymes of Erwinia carotovora. Arch. Biochem. Biophys., 1953, vol. 42, No. 2, p. 271—277.
Kream J. and Chargaff E. On the cytosine deaminase of yeast. J. Amer. Chem. Soc., 1952, vol. 74, No. 20, p. 5157—5160.
Krebs E. G. Yeast glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase. I. Electrophoresis of fractions precipitated by nucleic acid. J. Biol. Chem., 1953, vol. 200, No. 2, p. 471—478.
Krebs E. G., Rafter G. W. and Junge J. Yeast glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase. II. Yeast protein 2. J Biol. Chem., 1953, vol. 200, No. 2, p. 479—492.

СОДЕРЖАНИЕ

Экспериментальные статьи

С. А. Баринова. Влияние углекислоты на дыхание плесневых грибов . . . 521
М. Ф. Лохвицкая. Изменчивость плесневого гриба Aspergillus oryzae 527
М. В. Федоров и И. В. Козлов. Влияние связанных соединений азота на азотфиксирующую активность клубеньковых бактерий в клубеньках сои и фасоли и взаимоотношения между ними и бобовыми растениями 534
Н. В. Мешков и Р. Н. Ходакова. Влияние корневых выделений гороха и кукурузы на развитие некоторых почвенных микробов в условиях выращивания их в ризосферном растворе растений 544
А. Е. Крисс и Е. М. Маркианович. Наблюдения за скоростью размножения микроорганизмов в морских водоемах 551
Н. Д. Иерусалимский. Вычисление скорости роста водных микроорганизмов на стеклах обрастания 561
Л. К. Осницкая. Численность и биомасса бактерий в водной толще северной части Каспийского моря 571
Г. С. Китавин. О сбраживании сульфитных щелоков дрожжами 580
В. И. Любимов. Микроаэратор — прибор для физиологических исследований аэробных микроорганизмов 584
Г. М. Кублановская и Н. В. Браилова. О роли антибиотических веществ сока хлопчатника в иммунитете его к увяданию 587
Е. Т. Дикасова. Применение хлорной извести в борьбе с мускардиной тутового шелкопряда 595

Дискуссия

Л. М. Доросинский. О некоторых дискуссионных вопросах почвенной микробиологии 600

Обзоры

М. А. Пешков. О так называемых L-формах бактерий 607

Рефераты

Общая микробиология, морфология, физиология и биохимия 629

Критика и библиография

Л. И. Рубенчик — Использование микроорганизмов для повышения урожайности сельскохозяйственных культур и плодородия почвы 635
Библиография 637

Т-06942 Подписано к печати 2/X 1954 г. Печ. лист. 10,27+1 вклейка
Уч.-изд. л. 12,0 Формат бумаги 70×108 1/16. Бум. л. 3 3/4. Тираж 6025 экз. Зак. 573

2-я типография Издательства Академии наук СССР. Москва, Шубинский пер. 10

Цена 12 руб.